

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт экологии и географии
Кафедра экологии и природопользования

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой



подпись

« 20 » 06 20 17 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Система «растение-микроорганизмы» в биоремедиации почв, загрязненных
нефтью и нефтепродуктами

05.04.06 Экология и природопользование

05.04.06.02 Общая экология

Руководитель



подпись, дата

Н.В. Пахаров

инициалы, фамилия

Выпускник



подпись, дата

А.С. Тека

инициалы, фамилия

Нормоконтролер



подпись, дата

Т.С. Шибачева

инициалы, фамилия

Рецензент



подпись, дата

О.В. Золотых

инициалы, фамилия

Красноярск 2017

ВВЕДЕНИЕ

В условиях ускоренного развития промышленности и индустрии одними из основных и наиболее важных аспектов являются охрана и воспроизводство природных ресурсов, подвергающихся интенсивному антропогенному воздействию. Деятельность человека на поверхности земли приобретает все более масштабные проблемы в геологических процессах. В свою очередь, интенсивная деградация почв связана с разливами нефти, в ходе ее добычи, транспортировки и аварийных ситуациях.

Растения являются основой любого биогеоценоза, и поэтому отклонения биохимических, физиологических реакций растений весьма чувствительных к изменению условий среды, могут служить индикатором ее состояния.

В последнее время уделяется очень много внимания биоремедиации почв. Но чтобы выбрать подходящий, легкодоступный метод необходимо выбрать устойчивые к нефтяному загрязнению растения и микроорганизмы-нефтедеструкторы, которые разлагают углеводороды на более простые соединения, доступные для растений.

Цель исследований – подобрать оптимальные группы растений и микроорганизмов для их использования в биоремедиации при загрязнении почв нефтью и нефтепродуктами.

Задачи по выполнению диссертационной работы:

- 1) Изучить изменение морфологических параметров исследуемых растений при загрязнении почвы нефтью и нефтепродуктами.
- 2) Сопоставить устойчивость растений к загрязнению нефтью в присутствии различных видов бактерий-нефтедеструкторов и сорбентов методом регистрации параметров замедленной флуоресценции.
- 3) Определить наиболее устойчивое сочетание видов растений и микроорганизмов на загрязненной углеводородами почве.

Работа выполнялась на кафедре экологии и природопользования Института экологии и географии Сибирского Федерального университета под руководством к.б.н. Пахарьковой Н.В. Научный консультант – д.б.н., профессор базовой кафедры биотехнологии Прудникова С.В.

1 Воздействие нефтепродуктов на окружающую среду

1.1 Компоненты нефти и их действие

Одна из основных проблем экологии в условиях возрастающего антропогенного давления на окружающую среду и ее защиту от техногенного загрязнения. Входя в окружающую среду нефти и нефтепродуктов, подвергаются экосистемы и ее компоненты к увяданию экосистемы в целом. Действие углеводородов являются стабильным источником канцерогенного и мутагенного эффекта. Загрязнение почв нефтепродуктами приводит к выведению, уничтожению обширные зоны их полнейшей деградации сельского хозяйства. Исследованиями многих авторов доказано, что естественное восстановление плодородия почв, загрязненных нефтяными углеводородами, занимает длительный период [20].

Нефть-это горючая маслянистая жидкость, распространенная в осадочной оболочке Земли; важные минералы. Сложная смесь алканов, некоторых органических соединений и алкенов, а также кислородных, сернистых и азотистых соединений [7].

Факторы, которые взаимодействуют с загрязнения нефтью являются: 1) уникальная многокомпонентность состава нефти в процессе постоянного изменения; 2) гетерогенность состава и структуры любой экосистемы в процессе постоянного развития; 3) многообразие и изменчивость внешних факторов, под воздействием которых находится экосистема: температура, давление, влажность, состояние атмосферы, гидросферы и т. д.[12].

"В качестве эколого-геохимических характеристик основного состава нефти приняты содержание легкой фракции (начальная точка кипения 200 °С), метановых углеводородов (включая твердые парафины), циклических углеводородов, смол и асфальтенов и сернистых соединений"[20]. Легкая фракция нефти, куда входят наиболее простые по строению низкомолекулярные метановые (алканы), нафтеновые (циклопарафины) и ароматические углеводороды – наиболее подвижная часть нефти.

Большую часть легкой фракции составляют метановые углеводороды с числом углеводородных атомов от 5 до 11 (пектан, гексан, гептан, октан, нонан, декан, ундекан). Нормальные (неразветвленные) алканы составляют в этой фракции 50-70%.

Метановые углеводороды легкой фракции, находясь в почвах, оказывают наркотическое и токсическое действие на живые организмы. Особенно быстро действуют нормальные алканы с короткой углеводородной цепью, содержащиеся в основном в легких фракциях нефти. Эти углеводороды лучше растворимы в воде, легко проникают в клетки организмов через мембраны, дезорганизуют цитоплазматические мембраны организма. Нормальные алканы, содержащие в цепочке менее 9 атомов углерода, большинством микроорганизмов не ассимилируются, хотя могут быть окислены. Их токсичность ослабляется в присутствии нетоксичного углеводорода, который уменьшает общую растворимость алканов [6].

Ученые считают что сильное токсическое действие легкой фракции нефти на микробные сообщества и почвенных животных оказывают наибольшее воздействие. Легкая фракция, мигрируя по почвенному профилю и водоносным горизонтам, расширяет, иногда значительный, ореол первоначального загрязнения. На поверхности эта фракция в первую очередь подвергается физико-химическим процессам разложения, входящие в ее состав углеводороды наиболее быстро перерабатываются микроорганизмами.

Самая большая часть легкой фракции нефти разлагается и улетучивается еще на поверхности почвы или смывается водными потоками. Путем испарения из почвы удаляется от 20 до 40% легкой фракции [3].

Легкая фракция нефти, которая включает в себя наиболее простую молекулярную структуру метана (алканы), нафтеновые (циклопарафин) и ароматические углеводороды – наиболее подвижная часть нефти.

Значительная часть легкой фракции составляют метановые углеводороды с числом атомов углеводорода от 5 до 11 (пектин, гексан, гептан, октан, нунан,

дин, бумажно-слоистый пластик). Нормальные (неразветвленные) алканы находятся во фракции 50-70%.

Метановые углеводороды легкой фракции, находясь в почвах, которые имеют наркотическое и токсическое воздействие на живые организмы. Особенно быстро нормальные алканы с короткой углеводородной цепью, содержащиеся в основном в легких фракциях нефти. Эти углеводороды более растворимы в воде, легко проникают в клетки организмов через мембраны, дезорганизуют плазматическую мембрану организма. Нормальные алканы, содержащие в цепочке менее 9 атомов углерода, большинство микроорганизмов не ассимилирует, хотя они могут быть окислены. Их токсичность ослабляется в присутствии нетоксичного углеводорода, который снижает общую растворимость алканов [6].

Ученые считают, что сильное токсическое действие легкой фракции сырой нефти на микробные сообщества и почвенных животных, имеющих наибольшее влияние. Фракция мигрирует по почвенному профилю и водоносным горизонтам увеличивается, иногда значительно, гало первоначального загрязнения. На поверхности эта фракция в первую очередь подвергают физико-химическому разложению процессов, входящих в ее состав углеводородов наиболее быстро утилизируются микроорганизмами.

Большую часть легкой фракции нефти разлагается и испаряется на поверхности почвы или смывается водными потоками. Путем испарения из почвы удаляется от 20 до 40% легкой фракции [3]

1.2 Поступление углеводородов в почву, состав органических загрязнителей

Жидкие углеводороды являются одними из самых распространенных и наиболее опасных для окружающей среды (токсичности; масштабы, продолжительность и устойчивость действия) загрязняющих веществ в природную среду. Их основными источниками являются нефть и

нефтепродукты, которые могут упасть на поверхность почвы различными способами, например, при бурении скважин нефтяных месторождений, танкеров, аварий или утечек в трубопроводах, транспортировке и переработке нефти и при очистке отстойников, танкеров и автоцистерн от остатков нефти и нефтепродуктов [5].

Нефти и продуктов ее переработки является весьма сложным, нерегулярные и разнообразные смеси углеводородов различного строения и высокомолекулярных смолисто-асфальтивных веществ. Выделять нефть легкой фракции (температура кипения 200 °C), метановых углеводородов, включая парафины, циклические углеводороды, смолы и асфальтены, а также сернистых соединений. Ниже приведены некоторые из соединений, входящих в состав нефти [6].

Влияние нефти и нефтепродуктов на экосистему определяется совокупностью содержащихся в нем компонентов. В основном, нефти состоит из алифатических углеводородов в некоторых случаях (в зависимости от ее происхождения) он также может содержать алициклические и ароматические углеводороды. В небольших количествах в состав масла входят также кислородсодержащие соединения, такие как альдегиды, кетоны и карбоновые кислоты, серо - и азотсодержащие [7]

Основными видами сырья в жидкие нефтепродукты представляют собой фракции углеводородов, получаемые из нефти при перегонке процесс и обработка: бензин (C4-C12, т. Кип. 40-200 °C), керосин (C12-C16; 200-300 °C), дизельного топлива (C16-C20; 300-400 °C), мазута, масел различного назначения и мазута. Наряду с углеводородами в нефти и масла содержат соединения с атомами H, N и O. Помимо обычных компонентов товарных нефтепродуктов являются различные добавки, которые улучшают их эксплуатационные свойства[7]. Поступая в почву, алканы легкой фракции C5-C11 наркотическое или токсическое действие на живые организмы. Особенно быстро нормальные алканы с короткими углеводородными цепями. Свет фракция мигрирует по почвенному профилю и водоносным горизонтом,

распространяя гало первоначального загрязнения. На поверхности эта фракция подвергается процессам разложения, наиболее быстро обрабатываются микроорганизмами и исчезает. Когда просачивание смолистых нефтяных компонентов на верхней части почвы, на которой они адсорбируются в основном в верхнем (гумусового) горизонта, прочно цементируя пространство почвы. Смолисто-асфальтеновые компоненты гидрофобной. Обволакивая корни растений, они резко ухудшают поступление к ним влаги, в результате растения гибнут и не восстанавливаются в течение длительного времени в этой области. Ароматических углеводородов нефти, составит от 5 до 55 %. Это наиболее токсичные компоненты нефти.

Положительная динамика роста нефтезагрязненных почв отмечается во многих странах[53]. Основными факторами негативного воздействия нефтяного загрязнения на биологические объекты являются токсическое действие углеводородов и изменение физико-химических свойств почвы. Влияние нефтяных загрязнений на физико-химические свойства почвы связано в основном с маслом, обволакивая частицы почвы, в связи с чем наблюдается сильное увеличение гидрофобности почвы, он теряет способность впитывать и удерживать воду, воздух вытесняется из пор грунта, и, в конечном счете, нарушаются водный и воздушный режимы почвы [8]. Нефтяное загрязнение ингибирует активность ферментов, участвующих в углеводном обмене: инвертаза, амилаза, целлюлаза, ксиланаза, в результате чего замедляются процессы разложения растительных остатков, изменения в трансформации органических соединений [9]. Снижает интенсивность ферментативного превращения углеводов, что приводит к торможению движения поступающего в почву органического вещества и накопленной в нем энергии, и ее накопление в почве в виде гумуса.

1.3 Влияние нефтяного загрязнения на плодородие почв и приемы их восстановления

Природные углеводороды, которые являются одним из самых сложных строительных объектов в среде, с которыми приходилось сталкиваться человечеству и миру в целом, за всю историю [11]. Положительная динамика роста нефтезагрязненных почв отмечается во многих странах. Добыча нефти в России, и во всем мире, связана с риском загрязнения окружающей среды и среды обитания. "Согласно опубликованным данным, только в 1995 году в России было более 2000 крупных разливов нефти. Программа экологической безопасности компании "ЛУКОЙЛ" на период 1996-2000 годов. израсходовано 16,2 млрд рублей. Следует отметить, что практически все средства идут на разработку технических методов предотвращения утечек нефти после разлива. Опыт добычи нефти в Республике Татарстан показал, что эксплуатация нефтяных месторождений сопровождается разрушением или загрязнением 1,0 до 1,3 м² земельной площади в расчете на тонну добытой нефти" [9].

Засорение природной среды нефтью и нефтепродуктами является наиболее острой экологической проблемой практически во всех регионах России. "По неполным данным в РФ на необходимость очистки (только из-за загрязнения нефтью) 800 тыс. га, но площадь находится под угрозой загрязнения, гораздо больше. Анализ мирового опыта показывает, что в настоящее время интенсивно разрабатывается концепция защитное оборудование к конкретным почвенно-экологические условия формирования уровня антропогенной нагрузки и сохранение многофункциональности среды" [17]. Методология по борьбе с загрязнением нефтью и нефтепродуктами крайне сложно. Реакция почв на загрязнение нефтью, их чувствительность к этим загрязнителям отличаются в разных почвенных зонах в пределах сопряженных ландшафтов[58].

Негативное действие нефтяного загрязнения длительно. Продолжительность его определяется конкретными почвенно-климатическими особенностями. Например, на черноземах Западно - Сибирской низменности последствия нефтяного загрязнения продолжаются 6-7 лет[26]. Восстановление биоценоза определяется уровнем загрязнения. При содержании нефти в

пахотном горизонте состоянии 10% биоценоз возрождается через 10 лет, при более сильном загрязнении восстановление первоначальной продуктивности происходит через несколько десятилетий, если не использовать технологии биоремедиации [29]. Отрицательное влияние нефтяного загрязнения отмечено на всех типах почв РФ [1]. Исследованиями установлено, что нефтяное загрязнение влияет на все параметры растений [21].

Взаимодействие нефти с почвами определяется их свойствами. Сорбция нефти серыми лесными почвами зависит от содержания физической глины, гумуса, влажности. Зависимость носит сложный нелинейный характер, что свидетельствует о наличии нескольких механизмов сорбционного связывания углеводородов [22]. Различия в адсорбции углеводородов могут быть связаны с минералогическим составом. В частности, было установлено, что доминирование каолинита и монтмориллонита усиливает адсорбцию [24].

Отмечена способность некоторых типов почв (черноземы лесостепи) к самоочищению при загрязнении мазутом, когда интенсивная деградация происходит в слое 0-40 см. За два года убыль токсиканта составила 75 % от попавшего в почву. В дальнейшем интенсивность самоочищения снижается и составляет 2-7 % ежегодно [25].

Перемещение нефти по профилю почв полностью определяется типовыми особенностями почвенного профиля. Так, слой 0-40 см чернозема выщелоченного с ненарушенной структурой при влажности, соответствующей полевой влагоемкости состоянию, практически полностью задерживает проникновение алифатических и ароматических углеводородов [2].

Запасы азота, имеющиеся в атмосфере, способны использовать только прокариоты. Самостоятельно или в симбиозе с высшими растениями они могут переводить инертный азот в органические соединения и включать его (непосредственно или через растения) в белок, который в конечном счете переходит в почву. Способность микроорганизмов усваивать молекулярный азот и строить из него азотосодержащие соединения клетки называются азотификсацией. К числу наиболее активных свободноживущих

азотификсаторов относятся виды Азотобактера. В зависимости от типа почвы и экологических условий содержание актиномицетов от 5% до 70%, составляя около 30% общей численности микроорганизмов в почве. Одни растут на сложных органических средах, другие на простых соединениях [45].

Исследования установили, что многие проблемы создания надежных технологий защиты почв от углеводородного загрязнения не имеет единственного решения. Существует целый комплекс проблем - регулирование загрязнения, методология мониторинга, технологии утилизации. Одним из наиболее распространенных решений для сложных проблем комплексной оценки устойчивости загрязнения почв и картирование нестабильности. Чрезвычайно важным вопросом является определение допустимых пороговых уровней загрязнения для каждого типа почв [4]. В теоретическое почвоведение появились работы, которые свидетельствуют о необходимости изменения антропоцентрической парадигмы экологического менеджмента на альтернативных биоремедиационной концепция партнерства общества и природы. Наряду с принципами дифференциации и интеграции должны быть разработаны и интегрированы регулирования [3]. Это крайне важно, так как загрязнение масла выживали только устойчивые лиц или групп населения. Опыт показывает, что восстановление биоразнообразия с точки зрения богатства и число лиц, требуется не менее 8-9 лет. В последние годы сформировалось мнение о необходимости междисциплинарного подхода к оценке влияния загрязнения нефтью и обязательной основе четырех параметров: суммарной концентрации, трансформируемость, доступность, экотоксичности.

Многие исследователи отмечают, что изначально масло может действовать как биологический стимулятор при низких уровнях загрязнения. Высокие дозы приводят к долговременным необратимым изменениям микробиологических свойств почвы в будущем к изменению водно-воздушного режима [26].

Мировая практика показывает, что биоремедиации является важным направлением рекультивации нефтезагрязненных почв. В сравнении с небиологическими методами он менее затратный и экологически безопасный.

ПАВ имеют широкий спектр применения благодаря своим уникальным свойствам, как специфичность, низкая токсичность и относительная простота приготовления. Эти свойства дают надежду на ПАВ для увеличения степени микробной деструкции нефтяных углеводородов, что способствует эффективному восстановлению нефтяного загрязнения. В данной статье представлен обзор существующих исследований и публикаций на тему биodeградация углеводородов нефти окислительного метаболизма бактерий, а также использование биогенных поверхностно-активных веществ на эти процессы. Унижающих достоинство видов углеводородных бактерий, продуцирующих поверхностно-активные вещества и их поиск консорциумов было предусмотрено, типы микробных поверхностно-активных веществ и их физиологическую роль была описана и заказал. Был изучен ряд факторов, влияющих на поверхностно-активные свойства культур производители. Результаты являются достаточно обнадеживающими для продолжения квеста для повышения биodeградации углеводородов с использованием поверхностно-активных веществ ПАВ рассчитывают на решение проблемы нефтяных загрязнений[75].

1.4 Влияние углеводородов на рост растений

Согласно работам А. в. Назаров, угнетение и гибель растений на нефтезагрязненных почв, наличие воды и воздуха, как правило, через 10-15 дней после всходов; до этого срока, как правило, без видимых признаков угнетения, не наблюдается. Массовая гибель семян отмечено многими авторами [15]. Кроме того, при благоприятном водном режиме нефтезагрязненных сред обитания или в почве длительного загрязнения есть большое количество проросших растений, которые в первый раз, после

всходов, не ощущаю видимого угнетения. Это явление не связано с ухудшением свойств загрязненной почвы, как это наблюдается в почве с нефтяных смесей, снижение гиперемии и воздушного режима почвы [40]. Это тоже не из-за отравления углеводородов в почве, загрязненной нефтью, как массовая гибель сеянцев отмечен как в почве и в почве несколько лет после заражения. Острое токсическое действие углеводородов на нефтяных загрязнений не долго, так как она из-за легких нефтяных фракций, которые относительно быстро выветривается и распадается [3].

Однако, мы знаем, что растения очень чувствительны к загрязнению масла. По некоторым данным, полное уничтожение урожая происходит, когда утечка 1,1 л/м², или 0,5%, содержание масла в 15 см слое почвы. Сильное отрицательное влияние загрязнения на растительность отметил, в условиях бесцеремонно тундры Канады и Аляски, средняя Тайга, Южная Тайга, пустыня, тропический уголок с периодом восстановления растительности на 10-20 лет с сильной нефти [28].

Есть экосистемы, где нефтяное загрязнение имеет незначительное негативное воздействие или даже положительно повлиять на растение. Известно, что композиция сырой нефти включает в себя регуляторы роста растений [61]. Некоторые авторы считают, что нефть не влияет на прорастание семян растения [59]. В условиях пустынь и полупустынь на богатых нефтяных битумов, грунтов, расположенных над зонами глубинных разломов на нефтеносных территориях, часто отмечается стимуляция растений. Они имеют ярко-зеленый цвет в течение всего вегетационного сезона, в то время как вне этих зон растительности сгорает в начале июня, высота растений 2-3 раза выше, чем на незагрязненных участках, соответственно, выше и продуктивность растительных сообществ [18]. Предлагает даже использовать нефть, нефтепродукты (мазут, битум, смесей и т. д.), шламовых отходов в качестве инструментов борьбы с эрозией для закрепления Песков и для улучшения их разросшиеся растения в зоне пустынь и полупустынь.

Мало реагирования на загрязнение нефтью гидрофитные и водной растительности. Так, загрязнение маршей приводит к гибели растения, произрастающие там, но в большинстве случаев происходит стремительное выздоровление, в связи с чем марши может функционировать даже в условиях сильного загрязнения, который может быть использован для очистки загрязненной воды от нефтяных углеводородов. Также отмечено, что загрязнение масла в пресноводные болота реки Коннектикут, в некоторых видах растений (*Ceratophyllum demersum* и *Culichium maritimum*) даже увеличили их число. Количество воды и гидрофильных растений: камыш озерный, рогоз узколистный, рогоз широколистный, тростник обыкновенный, сусак зонтичный, осока водная, роголистник темно-зеленый, уруть мутовчатая, канадский канадский устойчив к загрязнению нефтью в концентрации 10 г/л воды; загрязнение 1 г/л оказывает стимулирующее влияние на данные предприятия[50].

Производство токсичных для растений веществ микромицетов в условиях нефтяного загрязнения почвы позволяет объяснить некоторые литературные данные. В ризосфере растений, произрастающих в нормальных условиях для незагрязненной почвы, доля семикаракорская сапротрофных микромицетов в общей численности ризосферных микроорганизмов, как правило, невелика и не превышает 1% . Их доля в зоне ризосферы увеличивается только тогда, когда растение находится в последней стадии своего развития, при отмирании корней [50].

В исследованиях при анализе численности микромицетов в зоне ризосферы и ризопланом клевера и костра безостого, выращенного на загрязненной и чистой почвы, было подтверждено, что в почве без нефти, это оба вида несколько десятых процента в численности гетеротрофных микроорганизмов. С увеличением концентрации в почве нефти, доля грибов в зоне ризосферы и ризопланом увеличивается на несколько десятков процентов, а в прикорневой зоне клевера это увеличение более значительно, чем корни костра безостого, а 30% загрязнения составляет 69,3 % от общего количества

микроорганизмов. Таким образом, есть меньше сопротивления загрязнения масла, красного клевера, костра безостого, чем [24].

Высокая зависимость прорастания семян клевер на экстрактах почвы количество микромицетов в соответствующую почву. Это указывает на сапротрофных производства грибов фитотоксические вещества. Ингибирование сапротрофных грибов с симбиотическими микроорганизмами, антагонистических микромицетов, это позволило увеличить выживаемость и биомассы растений на загрязненной почве. Результаты, полученные в работе А. в. Назаров, в целом, подтверждают гипотезу, которая, однако, была основана на данных по увеличению количества микромицетов при нефтяном загрязнении в почве. Исследования показали, что в реальных условиях большое значение резкое повышение фитотоксичности нефтезагрязненных почв ризосферы микромицетов [11].

С увеличением дозы нефти в почве, их количество в зоне ризосферы увеличивается гораздо больше и соответственно, фитотоксичности почвы ризосферы выше [50]

Рекультивация земель, загрязненных нефтью и тяжелыми нефтепродуктами, предполагает снижение их содержания в почве и воде до биологически безопасных концентраций. Однако, величины этих концентраций до сих пор не установлено из-за сложного и переменного состава нефти и вряд ли может быть однозначно установлено. Нефти различных месторождений и даже разных слоев того же месторождения могут значительно отличаться по химическому составу.

Поскольку основную опасность представляют канцерогенные и мутагенные вещества, содержащиеся в масле летучие и очень низких концентрациях, практически не влияя на производительность первого поколения зелеными растениями, которая оценивается обычно плодородия почвы, задача создания биологически безопасных уровней нефтяного загрязнения крайне сложно [29].

Рост и размножение многих видов зеленых растений возможно при содержании нефти в почве до нескольких процентов (в зависимости от типа почвы). И маслостойкий для некоторых растений, например, рогоз широколистный, масло является стимулятором роста, как вы видите на некоторых старых разливах нефти. Но накопление в растениях мутагенов и канцерогенов делает эти растения опасными для высших форм жизни.

Таким образом, очевидно, что рост зеленых растений не может служить истинным критерием реабилитации нефтезагрязненных земель и показывает только снижение концентрации нефти в почве ниже пределов фитотоксичности для разных видов растений и типов почв [37].

Тот факт, что нефть оказывает существенное негативное влияние на жизнь высших растений и растительных сообществ в целом, вряд ли является дискуссионным вопросом. Однако, при более внимательном изучении влияния нефти на особые морфологические или биохимические параметры, которые могут быть использованы в качестве ориентировочных показателей загрязнения почв нефтью, трудно сделать однозначные выводы.

Нефть оказывает существенное влияние на растения, вызывая изменение растительного покрова, уменьшает видовое разнообразие растений или вызывает их полное уничтожение, значительно ослабляет рост и развитие растений [29]. Под влиянием различных концентраций нефти из растений замедляется рост, нарушаются функции фотосинтеза и дыхания, изменяется структура хлоропластов существенно страдают корневая система, листья, стебли, репродуктивные органы [32]. Существуют различные морфологические нарушения: поворот листьев, печатность, листовые пластинки, тем меньше гибкость ветви; гигантизм и карликовость, искривление стеблей, наличие опухолей, обесцвечивание и некроз листовых пластинок [38]. Уменьшение роста стебля в высоту, снижение радиального прироста, нефтяное загрязнение ингибирует ростовые процессы. В условиях нефтяного загрязнения существенно снижается площадь ассимиляционной поверхности растений (мезофитных и ксерофитных растений). Корневая система уменьшает ее размер, изменение ее морфологии

(переход от фиброзной тип корневой системы к стеблю). Останавливает формирование клубеньков и развитие корневых волосков. Значительные изменения это анатомические особенности растений. Увеличение толщины листовой пластинки, кутикула исчезает, уменьшаются размеры клеток и число хлоропластов. В корневой системе растений утолщение эпидермиса, увеличивает количество элементов ксилемном и размером Центрального цилиндра, объем пневматической тканей. Размеры ксилемном элементов уменьшается, что обеспечивает корня более энергетически выгодный механизм поглощения и транспорта воды и минеральных элементов. Изменения анатомии и морфологии органов, направленные на создание защитных механизмов и выполняют компенсаторную функцию в ответ на нефтяное загрязнение. Реакция растений на загрязнение нефтью зависит от их принадлежности к экологической группе. Наблюдается увеличение характеристик устойчивы к воздействию нефтяного загрязнения растений, что обеспечивает защиту от токсического действия нефти [35].

Механизм негативного воздействия нефти и нефтепродуктов на биохимические процессы в растительных организмах - это плохо понимал. Предполагается, что углеводороды, входящие в состав легких фракций нефти, токсичных для растений, проникать в них. Однако, они могут нарушить структуру клеточных мембран, регулируют процессы, связанные с метаболизмом. Это проявляется в быстром повреждении и разрушения, а потом смерть всех живых, активных растительных тканей в вегетативном состоянии [39]. Таким образом, влияние нефти на высшее многоканальные растения медленного роста, нарушение фотосинтеза и дыхания; изменение структуры хлоропластов, страдают корневая система, листья, стебли, репродуктивные органы. Различная реакция растений на нефть в зависимости от их биоморфные и систематической принадлежности [32].

Так, Козловский Н. В. показал, что при загрязнении почв на нефтяных месторождениях Удмуртской Республики наблюдается резкое снижение видового богатства и общего проективного покрытия. Под влиянием

нефтепромысловых сточных вод, происходит сдвиг (задержка) развития растений. Наиболее устойчивые виды в почвах нефтяных месторождений, по мнению автора, являются пырей ползучий (*Elytrigia repens*), белый клевер (*Trifolium repens*), спорыш (*Polygonum minus*). Аналогичные данные были получены другими авторами [28].

В зоне влияния нефтеперерабатывающего завода (Самарская область) есть существенная антропогенная трансформация почв, проявляющиеся в повышении фитотоксичности. Растительность характеризуется обеднением видового и состав, ингибирование прорастания семян и ростовых процессов, появление видимых травм (хлороз, некроз), пониженный тонус [31].

По Гибадуллина И. г., бобовые являются более чувствительными к загрязнению. Но есть исследования, показывающие, что в почвах, содержащих высокий молекулярный вес углеводов, среди которых доминируют представители бобовых культур, часто образуя обширные кучки, а иногда и весь раздел только растут бобовые [6].

Таким образом, разливы нефти приводят к быстрой потере продуктивности земель или полной деградации ландшафтов.

1.5 Влияние микроорганизмов на процессы фиторемедиации окружающей среды от органических загрязнителей

Развитие нефтяной промышленности приводит к увеличению нагрузки на окружающую среду через различные виды чрезвычайных ситуаций, которые возникают в процессе производства, хранения и транспортировки нефтепродуктов. Единственный экологически безопасный способ очистки загрязненных почв является биоремедиация. Нефтеоокисляющих актинобактерий широко используются в процессах биоремедиации. Это связано с их высокой окислительной активности углеводов и устойчивость к изменению факторов внешней среды. Изучение свойств нефтеоокисляющих микроорганизмов представляет значительный интерес к проблемам

микробиологии и биотехнологии, поскольку углеводородокисляющих актинобактерий, таких как родококки, нокардиоз, гордония, в значительной степени определять как характер отношений между организмами в рамках микробиоты, и вносят решающий вклад в процессы биологической очистки и восстановления природного биоразнообразия [1,3]. Углеводородокисляющих актинобактерий также используются для создания сложных биологических продуктов с целью интенсификации процессов биоремедиации и исследовать взаимоотношения между различными группами микроорганизмов, входящих в состав этих препаратов [4,5]. Это дает вам возможность моделировать процессы биоремедиации в лабораторных условиях для изучения их влияния на экологическую ситуацию в загрязненных районах. Для сокращения сроков накопления биомассы и увеличение окислительной активности углеводов применяемых методов оптимизации условий жизнедеятельности микроорганизмов [6,7]. Повышение урожайности нефтеокисляющих актинобактерий биомассы может быть достигнуто с использованием углеводов в качестве единственного источника углерода. Накопление биомассы актинобактерий в среде культивирования также можно купить Пента - и гексадекана [8], однако, в первом случае, значительно уменьшает углеводородных активности, и во втором случае, из-за высокой стоимости гексадекана, снижение экономической эффективности [9]. В этой связи становится актуальным поиск альтернативных источников углерода, который имеет низкую стоимость и не снижают активность нефтеокисляющих актинобактерий в процессе выращивания

Использование микроорганизмов является одним из наиболее перспективных путей для повышения эффективности фиторемедиации. Известно, что наличие растений очень тесно связан с жизнедеятельностью микроорганизмов. Различных органов растений формируют вокруг себя определенные экологические ниши для жизни внутри или на поверхности бактерий и грибов. Положительного влияния микроорганизмов на растения уже давно используется в сельском хозяйстве для повышения урожайности,

улучшения питания и качества кормов сельскохозяйственных культур. Однако интенсивное изучение возможности использования микроорганизмов в фиторемедиации природоохранных объектов начался сравнительно недавно [7]. Влияние микроорганизмов в фиторемедиации могут быть разделены на прямые (участие в разрушении загрязняющих веществ и их поглощение растениями) и косвенные (изменение чувствительности растений к загрязнению).

Во многих исследованиях установлено положительное влияние микробно-растительных комплексов на очистку окружающей среды от полициклических ароматических углеводородов, синтетических поверхности активных веществ, нефтепродуктов, хлорорганических и фосфорорганических соединений и других ксенобиотиков [7].

1.6 Биооремедиация нефтезагрязненных почв

Разливы нефти приводят к негативному воздействию на окружающую среду, экономику и общество в целом. Для решения проблем, связанных с загрязнением окружающей среды нефтью и нефтепродуктами, человечество разрабатывает эффективные методы утилизации нефтяных загрязнений. Существуют различные технологии ремедиации почв, загрязненных различными углеводородами, в том числе дизельного топлива, нефти, нефтепродуктов, смазочных масел, битума и бункерного топлива. Современные методы включают экстракцию растворителем, биоремедиация, фиторемедиация, химическое окисление, восстановление электрокинетических, термических технологий, ультразвуковой, флотации и комплексного восстановления работы[7].

В связи с увеличением площадей земель, загрязненных нефтью и ее компонентов, проблема сохранения плодородия почв становится все более актуальной. Реабилитация природных объектов, особое внимание, в частности, разработаны различные методы очистки и восстановления биологической активности почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами. Наиболее

перспективным направлением для ремедиации нефтезагрязненных объектов является применение биологического метода, основанного на потенциале почвенных микроорганизмов в трансформации загрязняющих веществ различного состава и происхождения биоремедиации. В последние годы наблюдается растущий интерес к методам биоремедиации, потому что они эффективные, дешевые и экологически чистые способы защиты окружающей среды [48].

Часто процесс самоочищения среды недостаточно и необходимо применять дополнительные процедуры и различных субстраты, и препараты, которые поддерживают процесс биологической очистки. Сегодня, биоинженерия предлагает множество решений, которые позволяют для эффективного осуществления биологической рекультивации, в том числе биостимулированием. Для этой цели используют различные органические вещества, сорбенты, антимикробные и ферментные препараты, химические вещества естественного происхождения или наночастиц. Важно, что используемые субстраты или продукты, не оказывающих негативного воздействия на окружающую среду и легко подвергаться биodeградации [33].

Биоремедиация – использование растений и ассоциированных микроорганизмов для очистки окружающей среды. В этой технологии используются природные процессы, с помощью которых растения и ризосферные микроорганизмы деградируют и накапливают в разных загрязнителей. В последнее время в лабораториях проводятся широкие исследования различных видов растений, которые можно использовать в рекультивации нефтезагрязненных почв [27].

Технология фиторемедиации почвы, загрязненной нефтью, достаточно проста в применении. Он состоит из нескольких этапов[15]:

- 1) Оценка характера загрязнения участка (химический состав разлив, степень проникновения нефти в почву, сопоставление);
- 2) Разработка оптимальной схемы фиторемедиации (подбор растений, которые лучше всех устранить такого рода загрязнения и соответствуют

почвенно-климатическим условиям, спецификации, схемы посадки растений, выбора необходимых агротехнических мероприятий, в том числе энергетической и химической защиты растений);

3)выращивание растений (комплекс агротехнических мероприятий, в том числе из семян, подготовка почвы, внесение удобрений, использование средств защиты);

4)фаза контроля (определение концентрации и распределения химических компонентов нефти, отслеживание путей биodeградации нефти, проведение анализа информации и прогнозирования).

Фиторемедиация применяется прямо в районе загрязнения, способствует снижению затрат и уменьшению контакта загрязненного субстрата с людьми и окружающей средой. Фиторемедиация получил одобрение широкой общественности как экологически чистая альтернатива различным химическим и физическим методами.

1.7 Применение сорбентов

Полимерные сорбенты предназначены для быстрой локализации и очистки загрязненной среды (грунтов и воды, в том числе оборотных, производственных и ливневых) от нефти, нефтепродуктов, неполярных жидкостей, растворителей, ионов тяжелых металлов при проведении плановых, профилактических и лечебных мер в случае возникновения чрезвычайной ситуации, техногенных чрезвычайных ситуаций, связанных с пожарами.

Полимерные сорбенты в виде порошка, волокон, стружки, гранулы, твердые структурные элементы: Бон, маты, коврики, фильтры и т. д. изготавливаются из экологически чистых натуральных материалов, не токсичен и не опасен для окружающей среды, номера-абразивный и может использоваться в контакте с металлическими, пластиковыми и резиновыми деталями, не нужно использовать дорогостоящие средства защиты для обслуживающего персонала, ускорения рекультивации нефтезагрязненных почв, могут быть



использованы отдельно и в сочетании с различными биологическими продуктами, при этом обладая высокой сорбционной емкостью 47-83 НГ/г[48].

Планы ликвидации аварийных техногенных разливов нефти из транспорта можно отнести доступность и применение сорбентов [62]. Среди наиболее широко используемые полимерные сорбенты имеют ряд особенностей, которые отличают их от многих известных [63,66]. Для установления механизма сорбции нефти и нефтепродуктов, определение факторов, обеспечивающих более высокий коэффициент сорбции, исследования структуры полимерных сорбентов [67]. Эти композиты позволяют собирать нефтепродуктов (бензина, нефти, метанола, мазута, керосина, моторного масла, дизельное топливо) не только с поверхности водных объектов в пределах транспортной системы, а также на придорожной территории, как почвы, способны выполнять функции замена почвы в условиях сильного загрязнения при техногенных разливах нефти и нефтепродуктов [68-69]. Полимеры имеют пористую рамы; затем их размеры зависят от ингредиентов, используемых при их изготовлении, процесс синтеза, в частности, температуры, времени реакции полимеризации сорбента, что позволяет рассматривать полимерные сорбенты сорбентами с регулируемой структурой. Характер адсорбции, определяет форму и размер пор [70,72]. Во время адсорбции, образование слоев молекул поглощенного вещества толщиной в одну молекулу (мономолекулярная адсорбция) и толщиной в несколько молекул (мульти-молекулярная адсорбция). Эти сорбенты характеризуются широким распределением пор по радиусам и ярко выраженную неоднородность геометрической структуры. На 137 следует отметить, что сорбционная емкость существенно зависит не только от размера и формы пор, а также на температуру нефти или нефтепродуктов [73]

2 Характеристика объектов и методов исследования

В качестве объектов исследования были взяты некоторые виды семейств бобовых (*Fabaceae*) и злаковых (*Poaceae*).

Таблица 1 - Виды исследуемых растений семейств бобовых (*Fabaceae*) и злаковых (*Poaceae*)

Вид	фото
Семейство: Бобовые Род: Эспарцет Вид: Эспарцет песчаный(<i>Onobrychis arenaria</i>)	
Семейство: Злаки Род: Овсяница Вид: Овсяница тростниковая(<i>Festuca arundinacea</i>)	

Семена сельскохозяйственных растений были приобретены в ООО ПКФ “Семена Сибири”. Семена эспарцета, сорт песчаный 1251. Семена соответствуют качеству ГОСТ Р 52325-2005.

При первичном отборе растений на устойчивость к загрязнению нефтью и нефтепродуктами следовали рекомендациям литературных данных и методике. Для их выращивания использовали серую лесную почву, взятую в лесном массиве поселка Новокаргино Енисейского района. Почва была исследована на содержание железа, фосфора, алюминия и на кислотно-щелочную реакцию, а также был проведен анализ почвенной микробиоты. Определяя общее количество ризосферных микроорганизмов, применяли метод посева на плотные питательные среды.

Для определения микроорганизмов-нефтедеструкторов нами было заложено 4 пробных площадки площадью 50х50 см в сосняке мелкотравном. Площадки были разбиты на четыре группы: 3 площадки с нефтью, 3 площадки с дизельным топливом, 3 площадки с бензином марки АИ-92 и 3 площадки без загрязнения (контроль). На каждый из соответствующих площадок было внесено по 10мл нефтепродуктов (кроме площадки «контроль»).

После окончания опыта (через 30 суток после внесения нефти и нефтепродуктов в почву) были получены накопительные культуры углеводородокисляющих бактерий на жидкой питательной среде следующего состава (г/л): NaNO_3 – 3,0; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ – 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5; KCl – 0,5; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,01; вода водопроводная. Источником микроорганизмов служила почва. Среду по 99 мл разливали в колбы, вносили нефть в количестве 1 мл и добавляли 1 г почвы. Колбы инкубировали на термостатируемой качалке JEIO TECH SL-600 при 30°C и 120 об/мин в течение 15 суток. Результатом стало выделение колоний бактерий-нефтедеструкторов, которые в дальнейшем были использованы в модельном опыте.

Для выявления аборигенных видов аммонифицирующих бактерий использовали рыбо-пептонный агар (РПА), для выделения прототрофных бактерий – крахмало-аммиачный агар (КАА) следующего состава (г/л): растворимый крахмал – 10,0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 2,0; K_2HPO_4 – 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 1,0; NaCl – 1,0; CaCO_3 – 3,0; агар – 15; вода водопроводная – 1л. Культивировали при температуре 30°C. Подсчет бактерий на РПА производили

через трое суток, а на КАА через 7 суток. Путем разведения в 99 мл воды добавляли 1 г. почвы, за тем из полученного раствора брали 1 мл и помещали в пробирку 9 мл, далее из этой пробирки брали 1 мл и так в семь пробирок. Посев проводили с 5,6,7 пробирками разведения.

При модельном эксперименте по взаимовлиянию в системе «растения – почвенные микроорганизмы» был использован грунт «Рассадный Гарант» ООО ПКФ “Семена Сибири”. Также были использованы тканые и нетканые сорбенты, предоставленные научно-производственным объединением «Сибэксорб» Института нефти и газа Сибирского федерального университета.

2.1 Методы определения физических, физико-химических и химических свойств почв

Для определения общего органического углерода использовали косвенный метод определения, основанный на определении количества восстановителя пошедшего на титрования, в качестве раствора использовали дихромат калия с серной кислотой. Определение подвижных форм железа и алюминия, измеряли фотометрическим методом, определения проводятся для элементов с хромофорными свойствами. Выявление суммы обменных оснований - одни катионы замещаются другими, путем титрования (добавляли щелочь). Для определения соотношения почвенных частиц (по размеру), использовали метод гранулометрического состава.

2.2 Метод определения остаточного содержания нефти в почве

Определение массовой концентрации нефтепродуктов основано на их экстракции из образца воздушно-сухой пробы почв хлороформом, отделение от полярных соединений методом колоночной хроматографии после замены растворителя на гексане и количественном определении гравиметрическим методом. Отбирают навеску почвы массой 10 г. Навеску помещают в колбу

вместимостью 150 см³. Заливают 20-30 мл гексана, тщательно перемешивают и фильтруют в чистый промытый гексаном бюкс. Полученный фильтрат оставляют на сутки до полного высыхания, затем взвешивают.

2.3 Методы определения состояния растений

Растения были засеяны в почвогрунт в контейнеры объемом 1 л, и через 4 недели после высева семян были произведены измерения фотосинтетической активности растений методом регистрации замедленной флуоресценции, а также линейного прироста и массы растений.

Для изучения морфологических изменений растений при загрязнении почвы нефтью и нефтепродуктами, были определены длина растений и масса растений. Для измерения длины растений использовалась линейка с ценой деления 1 мм, измерения проводились с точностью до 0,1 см. Масса растений измерялась на аналитических весах «ГОСМЕТР» в граммах с точностью до 0,1 г.

Для измерения показателей замедленной флуоресценции (ЗФ) использовали разработанный на кафедре экологии и природопользования СФУ флуориметр «ФОТОН 10» (рисунок 1).



Рисунок 1- Флуориметр “Фотон 10”

Флуориметр для биологического контроля загрязнения окружающей среды «Фотон 10» предназначен для регистрации у различных растений параметров быстрой (БФ) и замедленной (ЗФ) флуоресценции хлорофилла. Измерения выполняются в автоматическом режиме, где вся получаемая информация выводится на управляющий компьютер. Перед началом работы в приборе размещали кюветы с образцами растений, устанавливали режим измерения ЗФ, далее загружали программный модуль управления прибором.

При проведении модельного опыта были взяты хорошо зарекомендовавшие себя в предыдущих исследованиях виды растений – овсяница тростниковая и эспарцет песчаный. В качестве грунта использовали в одном варианте опыта песок, а во втором – смесь грунта с песком 1:1. Предварительно песок был промыт и просушен в сушильном шкафу при температуре 110°C. Затем в каждый контейнер было добавлено 20 г нефти, а в смесь почвогрунта с песком – 11 г (10% от массы грунта). В лотки с песком и грунтом также были добавлены тканые и нетканые сорбенты, 7 гр и 1 гр соответственно. После подготовки субстрата в него были помещены семена растений и добавлен раствор обогащенного комплексного удобрения «Нитрофоска» (0,5 г). По истечению 14 дней наблюдались единичные всходы.

Затем был заложен второй опыт в аналогичных условиях, при этом в контейнеры после внесения нефти были внесены микроорганизмы-нефтедеструкторы из накопительной культуры. Через неделю в контейнеры были засеяны семена исследуемых растений. Для повышения пороговой концентрации нефти, при которой возможно использование растений в процессе биоремедиации, дополнительно были использованы тканый и нетканый сорбенты «Униполимер-Био» (таблица 1).

Таблица 1 – Описание модельного опыта.

	Песок		Почвогрунт+песок	
Без сорбента	Овсяница	Эспарцет	Овсяница	Эспарцет
Нетканый сорбент	Овсяница	Эспарцет	Овсяница	Эспарцет
Тканый сорбент	Овсяница	Эспарцет	Овсяница	Эспарцет

После лабораторного эксперимента был проведен опыт в естественных условиях. Растения были засеяны на опытном участке площадью 5x5 м² с естественной флорой, преобладающими видами которой были травянистые растения. На площадке были заложены экспериментальные участки в виде конверта, 50 на 50 см. На каждый из соответствующих площадок было внесено по 15 мл. нефтепродуктов, суспензия с аммонифицирующими бактериями и высеяны по 50 штук семян эспарцета песчаного. После опыта были произведены исследования фотосинтетической активности растений методом регистрации замедленной флуоресценции, а также прироста по морфологическим показателям.



Рисунок – 2 Опытный участок с нефтью

Остаточное содержание нефтепродуктов в почве определялось через два месяца после засева растений и внесения микроорганизмов, в лабораторных условиях. Ризосферные бактерии выделяли так же через два месяца после обработки почвы нефтепродуктами. После подготовки среды проводили высеив на рыбо-пептанном агаре, а затем анализировали колонии.

2.4 Метод оптимального выбора растения – микроорганизмы

Материалом для исследования служили образцы почвы, отобранные в районе Северо-Енисейска. В качестве объектов исследования была взята почва, Эспарцет песчаный и штаммы нефтеокисляющих бактерий (*Rhodococcus fascians*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Arthrobacter pascens*, *Arthrobacter polychromogenes*, *Rhizobium radiobacter*, *Rhodococcus erythropolis*), выделенных из нефтезагрязненных северных почв Северо-Енисейска.



Рисунок 3 - Внесение суспензии нефтеокисляющих бактерий

В качестве положительного контроля в контейнер с почвой вносили только нефть, отрицательный контроль – почва без добавления нефти и бактерий. Эксперимент проводили при комнатной температуре (20-25 °С) и естественном освещении в течение 20 суток.



Рисунок 4 - Контейнеры с исследуемыми растениями.

Почву распределяли в пластиковые контейнеры по 300 г и вносили 15 мл нефти. Затем в каждый контейнер засевали семена эспарцета по 50 семян и одновременно вносили по 42 мл суспензии одного из шести штаммов нефтеокисляющих бактерий, выделенных из нефтезагрязненных почв. Кроме того, в один из контейнеров вносили смесь всех вышеперечисленных штаммов.

3 Результаты исследования

Результаты исследования почвы до опытов и содержание в ней углерода, карбонатов, суммы обменных оснований, подвижные формы железа и алюминия представлены в таблице 2. Физические свойства серых лесных почв определяются, прежде всего, механическим составом, характером поглощающего комплекса, содержанием гумуса. От этих показателей зависит структура почв, их водный и воздушный режим, сложение. В целом физические свойства серых лесных почв следует считать в агрономическом отношении вполне удовлетворительными.

Таблица 2 – Физико-химический состав почвы

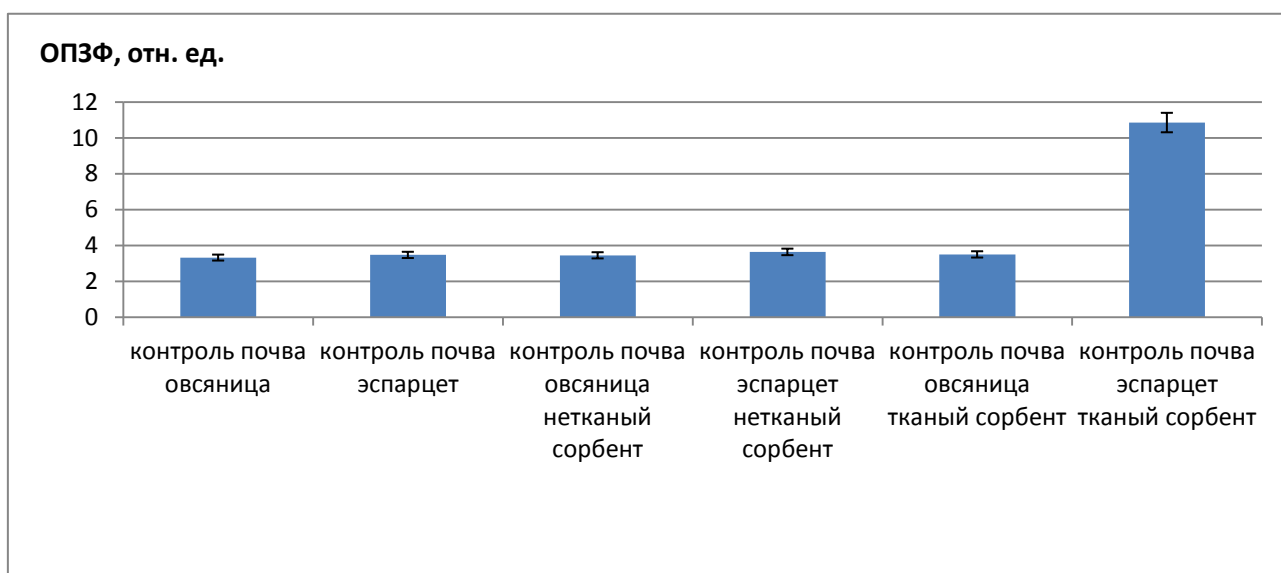
Место отбора, глубина	C, %	CO ₂ карбонатов, %	pH водный	pH солевой	Σ обм.основ., мг*экв/100 г почвы	Fe ₂ O ₃ , мг/100 г почвы	Al ₂ O ₃ , мг/100 г почвы	Kw
С-Е, 20 см	0	1,06	6,6	-	9	2,5	0,00	0,97

Химические свойства серых лесных почв отражают условия их формирования. Описываемые почвы имеют слабокислую реакцию почвенного раствора, не очень высокую насыщенность почв основаниями, пониженное количество илистых частиц в горизонте, малое содержание карбонатов, железа и алюминия.

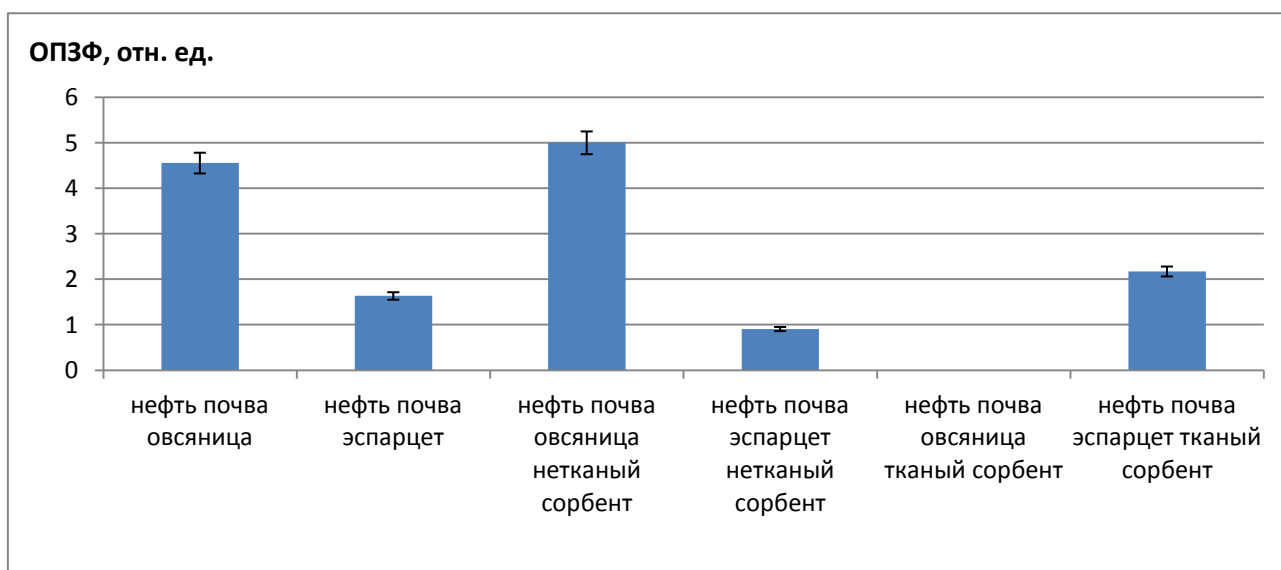
3.1 Влияние нефтепродуктов на ризосферную микрофлору бобовых и злаковых растений

Для повышения устойчивости растений к нефти, были использованы тканый и нетканый сорбенты «Униполимер-Био». При внесении в загрязненную почву микроорганизмов (нефтедеструкторов), всхожесть и масса

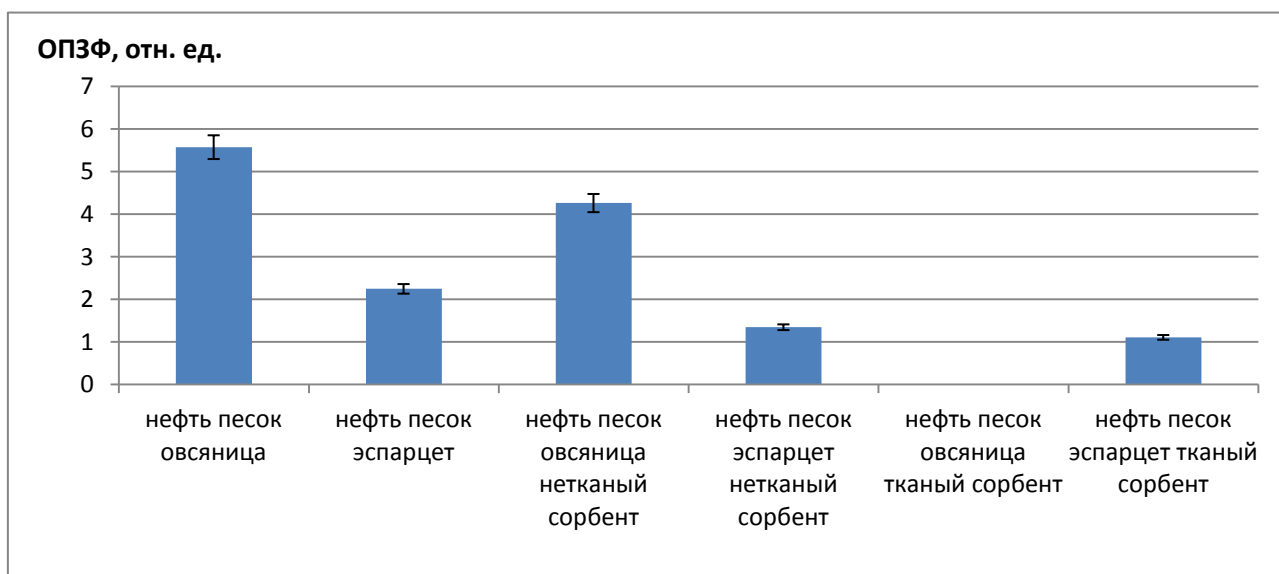
растений значительно увеличилось. Внесение сорбентов для увеличения поглощения порога нефтяного загрязнения, при котором могут применяться растения в биоремедиации. Полное описание сорбента представлено в приложении. В модельном опыте ОПЗФ хлорофилла листьев овсяницы тростниковой и эспарцета песчаного на песке и грунте загрязненного нефтью, заметно отличается от контроля (рисунок 5 А, Б, В). Вероятно, овсяница, попадая в неблагоприятные условия, увеличивает скорость метаболизма для повышения устойчивости.



А



Б



В

Рисунок 5 – ОПЗФ хлорофилла листьев исследуемых растений песке

А – в контроле, Б – на загрязненной нефтью почве, В – на загрязненном нефтью

Таблица 3 - Всхожесть, масса и длина растений (в почвогрунте)

	Грунт+нефть			Грунт+неткан+нефть			Грунт+ткан+нефть		
	Всхожесть, шт	Масса, гр	Длина, см	Всхожесть, шт	Масса, гр	Длина, см	Всхожесть, шт	Масса, гр	Длина, см
Onobrychis arenaria	5	0,83	10	22	1,63	10	6	0,17	2
Festuca arundinacea	1	0,75	7	2	0,57	3	-	-	-

Снижение всхожести семян было отмечено у овсяницы тростниковой. Высокий показатель всхожести эспарцета песчаного на почве отмечается его устойчивостью к неблагоприятным условиям. Наименьшая биомасса отмечена у овсяницы тростниковой, этот вид оказался самым чувствительным к загрязнению нефтью и нефтепродуктами. Наибольшая биомасса – у эспарцета песчаного.

Таблица 4 - Всхожесть, масса и длина растений (в песке).

	песок+нефть			песок+неткан+нефть			песок+ткан+нефть		
	Всхожесть, шт	Масса, г	Длина, см	Всхожесть, шт	Масса, г	Длина, см	Всхожесть, шт	Масса, г	Длина, см
<i>Onobrychis arenaria</i>	3	0,37	1	16	1,23	10	10	0,46	9
<i>Festuca arundinacea</i>	2	0,54	3	1	0,01	4	-	-	-

Всхожесть растений на почве интенсивнее, чем на песке, вследствие большей сорбционной способности почвы. Масса и всхожесть овсяницы на меньше чем у эспарцета. В контейнере с песком и тканым сорбентом как и на почве у овсяницы ни одной всхожести. Эспарцет как и на почве показал себя более устойчивее, это можно заметить на всхожести и массе растения.

Таблица 5 - Остаточное содержание нефти в почве и песке, мг/г

	почва		песок	
	Овсяница	Эспарцет	Овсяница	Эспарцет
Без сорбента	19,6	12,5	5,8	6,4
Нетканый сорбент	14,1	9,1	4,9	5,1
Тканый сорбент	13,8	17,7	7,0	6,6

Как следует из данных, представленных в таблице 7, нетканый сорбент в проведенном опыте показал себя лучше, чем тканый. Видимо, за счет его большей рыхлости нетканый сорбент впитывает больше нефти, к тому же, за счет более высокого значения отношения поверхность/объем, микроорганизмы могут разлагать нефть, сконцентрированную на нетканом сорбенте, т.е., его можно не удалять из почвы после технического этапа рекультивации.

При внесении нефти в почву численность аммонификаторов и прототрофов в большинстве случаев увеличивалась по сравнению с контролем. Рост бактерий на загрязненных почвах можно объяснить тем, что нефть и

нефтепродукты являются дополнительным источником углерода для некоторых групп микроорганизмов.



Рисунок 6 – Внесение углеводородоокисляющих бактерий

Из накопительной культуры, полученной на жидкой питательной среде с нефтью, было выделено шесть штаммов. Выделенные штаммы бактерий были идентифицированы как: *Rhodococcus fascians*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Arthrobacter pascens*, *Arthrobacter polychromogenes*, *Rhizobium radiobacter*, *Rhodococcus erythropolis*.

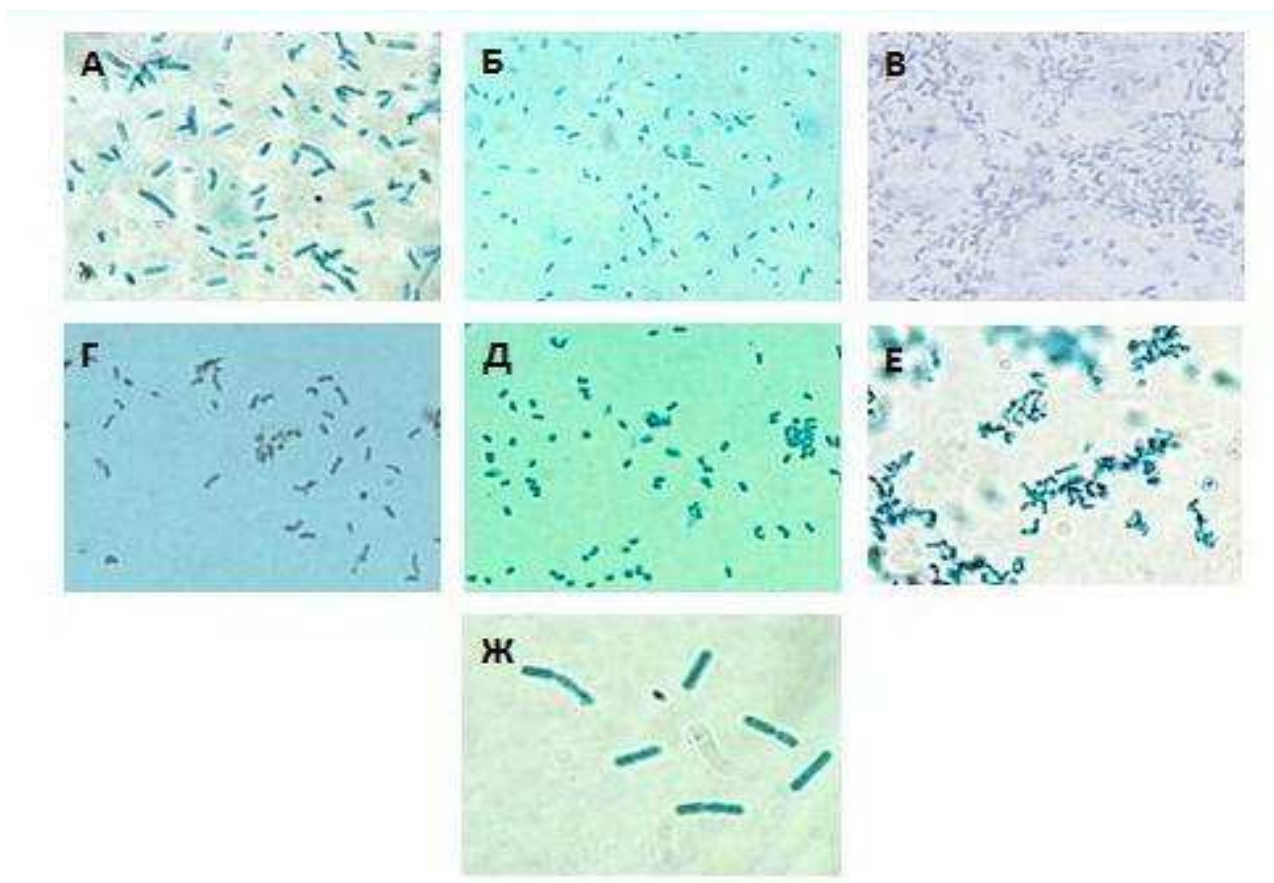


Рисунок 7 – Морфология углеводородокисляющих бактерий: А - *Bacillus pumilus*; Б - *Pseudomonas koreensis*; В - *Pseudomonas proteolytica*; Г - *Nocardia salmonicida*; Д - *Streptomyces griseus*; Е - *Rhodococcus fascianus*; Ж – *Bacillus cereus*

Согласно литературным данным, бактерии, представители р. *Pseudomonas*, являются наиболее выраженными деструкторами углеводов. Эти подвижные грамотрицательные бактерии на агаре формируют блестящие слизистые колонии.

Микробиологический анализ ризосферной почвы показал, что численность исследуемых групп бактерий в контрольных вариантах у разных видов растений была различной. Это объясняется селективным влиянием растений на формирующуюся в процессе роста ризосферную микрофлору.

Характер изменения численности ризосферных бактерий при внесении нефтепродуктов в почву определялся их видовыми различиями.

3.2 Влияние нефтепродуктов на растение *Onobrychis arenaria* и его ризосферную микрофлору

Микробиологический анализ ризосферной почвы показал, что при обработке нефтью численность аммонифицирующих бактерий и азотфиксаторов уменьшилась, прототрофов увеличивалась, а численность микромицетов достоверно от контроля не отличалась (рисунок 8).

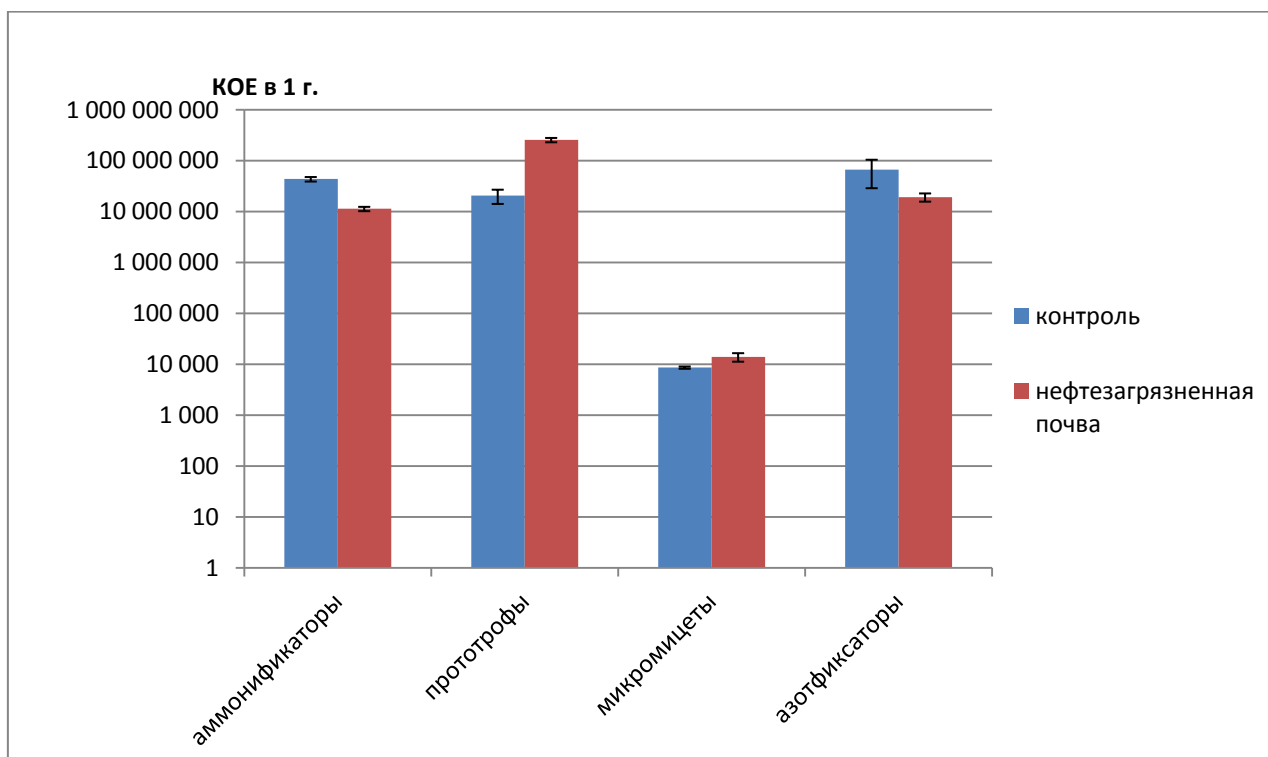


Рисунок 8 – Численность микроорганизмов в ризосфере эспарцета песчаного

Видимо, при загрязнении углеводородами в микрофлоре эспарцета активизировались прототрофные бактерии, способствующие благоприятному перенесению растением загрязнения нефтью.

3.3 Влияние углеводородокисляющих бактерий на *Onobrychis arenaria*, произрастающего на нефтезагрязненной почве

Также было исследовано влияние дополнительного внесения углеводородокисляющих бактерий при выращивании эспарцета песчаного (*Onobrychis arenaria*) на нефтезагрязненных субстратах (почвогрунт и песок). Как показали исследования, загрязненный нефтью субстрат оказался непригодным для растения видимо нефть создает пленку на почве и тем самым нарушается газообмен в субстрате, семена в таких условиях не проросли. Внесение суспензии выделенных штаммов микроорганизмов, устойчивых к нефтепродуктам, снизило фитотоксичность субстратов и рост растений наблюдали во всех обработанных вариантах через 7 суток после внесения микроорганизмов.

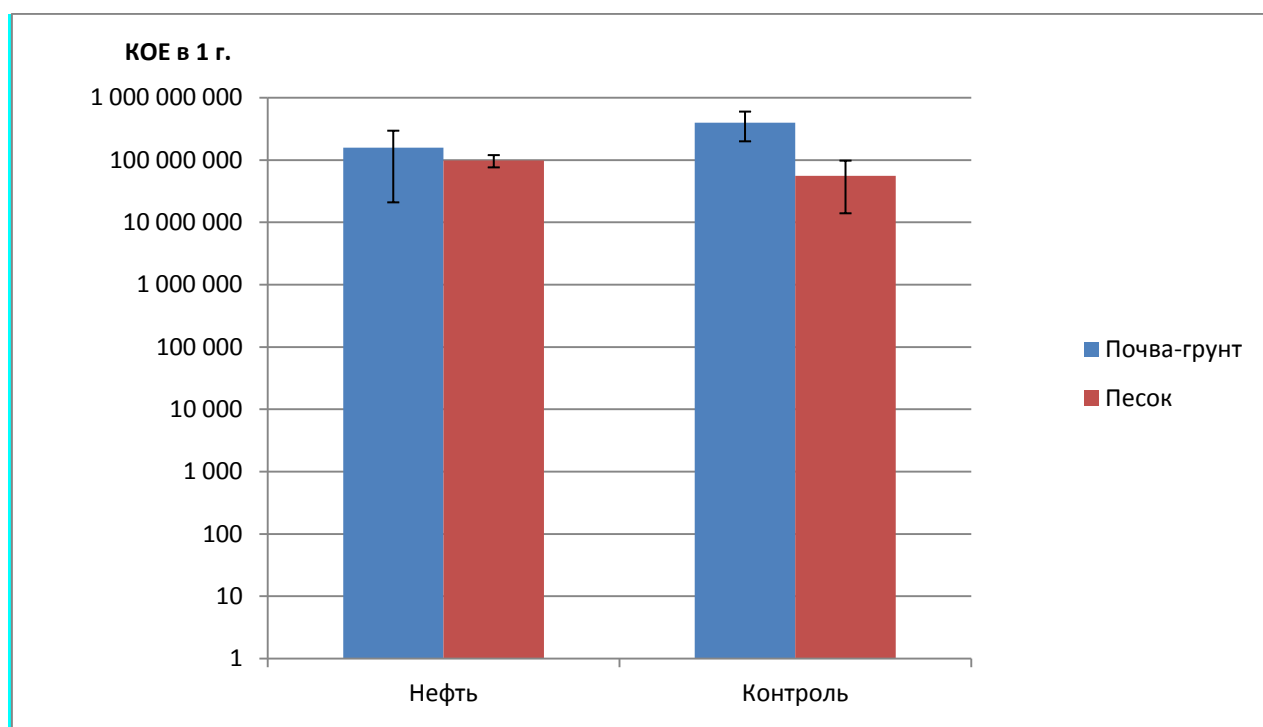


Рисунок 9 –Численность аммонифицирующих бактерий через 16 суток после внесения углеводородокисляющих микроорганизмов в нефтезагрязненные образцы грунта

Микробиологический анализ прикорневой почвы показал, что при внесении углеводородокисляющих бактерий в почвогрунте численность аммонифицирующих бактерий ризосферы эспарцета песчаного достоверно от контроля не отличалась (рисунок 9), тогда как численность прототрофных

бактерий увеличивалась (рисунок 10). Это может свидетельствовать об активно протекающих процессах минерализации и поступлении в почву метаболитов – продуктов переработки углеводов нефти.

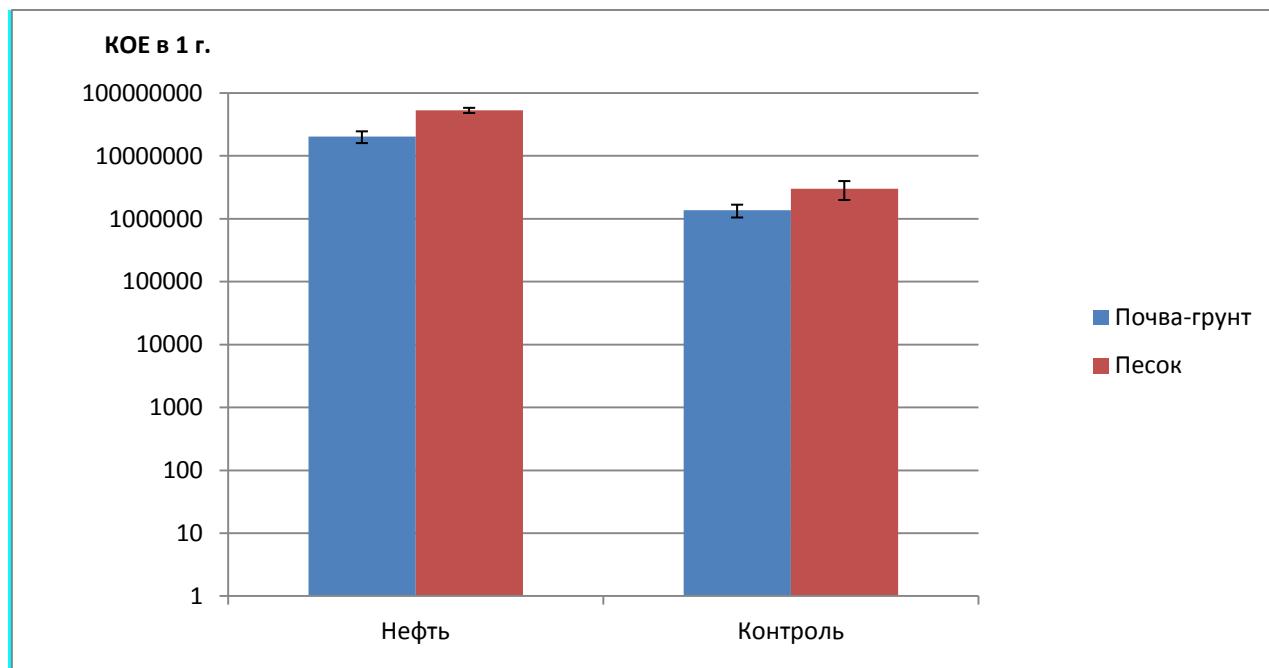


Рисунок 10 – Численность прототрофных бактерий через 16 суток после внесения углеводородокисляющих микроорганизмов в нефтезагрязненных образцах песка.

Определение остаточного содержания нефти в почва-грунте и песке проводили через месяц от момента загрязнения. В результате воздействия растений и углеводородокисляющих микроорганизмов содержание нефти снизилось во всех вариантах опыта в миллионы раз по сравнению с исходным количеством внесенной нефти и составило для почва-грунта $12,465 \text{ мг/м}^3$, песка - $6,3562 \text{ мг/м}^3$.

3.4 Морфологические показатели *Onobrychis arenari*, выращенного с добавлением в грунт углеродоразлагающих бактерий

Показатели всхожести и массы семян изучались на 20 день после засева и внесения нефтеокисляющих штаммов и нефти. Результаты, полученные при взвешивании растений, согласуются с данными по замедленной флуоресценции

(рисунок 11). Количество проростков *Onobrychis arenaria* с *Rhodococcus erythropolis* и *Arthrobacter polychromogenes* больше чем в остальных случаях, соответственно и сухая масса в этих случаях больше и составляет у *Onobrychis arenaria* с *Rhodococcus erythropolis* 0,28 г.. В случае *Onobrychis arenaria* с *Arthrobacter polychromogenes* сухая масса составляет 0,21 г. что соответствует средней длинны растения и его всхожести.

Таблица - 6 Показатели всхожести и массы семян

№ образца	Кол-во проростков, шт.	Масса, г	Средняя длина, см.	Сух.масса растения, г
1. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Rhodococcus fascians</i> +нефть	20	1,24	3	0,13
2. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> +нефть	17	1,53	4	0,15
3. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Arthrobacter rascens</i> +нефть	25	2,38	4	0,20
4. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Arthrobacter polychromogenes</i> +нефть	28	2,52	10	0,21
5. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Rhizobium radiobacter</i> +нефть	11	0,97	5	0,10
6. <i>Rhodococcus erythropolis</i> + <i>Onobrychis arenaria</i> +нефть	31	3,07	9	0,28
7. <i>Onobrychis arenaria</i> +Все штаммы вместе+нефть	19	1,85	9	1,13
8. <i>Onobrychis arenaria</i> +нефть	34	3,35	10	0,25
9. <i>Onobrychis arenaria</i> на чистой почве	36	3,81	12	0,35

Наибольшее снижение показателей замедленной флуоресценции отмечено *Onobrychis arenaria* вместе с *Rhizobium radiobacter* на нефть, этот вид оказался чувствительным к данной среде. Наиболее устойчивым эспарцет песчаный показал себя на всех остальных средах, там замечалось интенсивность замедленной флуоресценции, а, следовательно, и скорость фотосинтеза увеличилась.

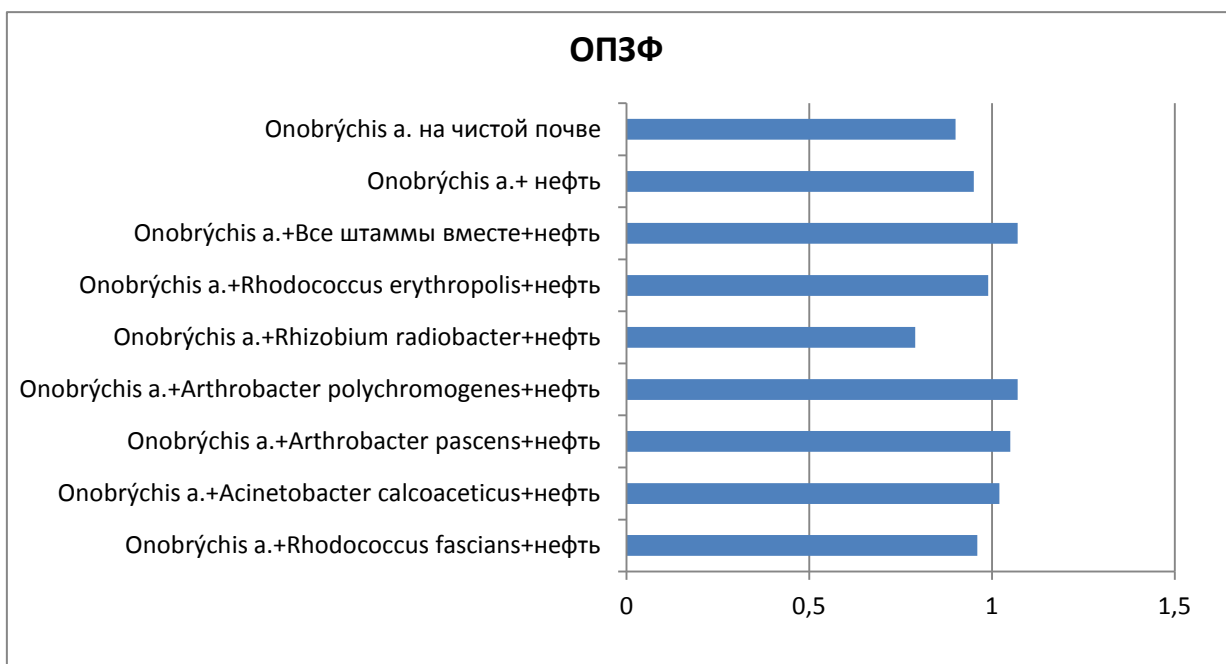
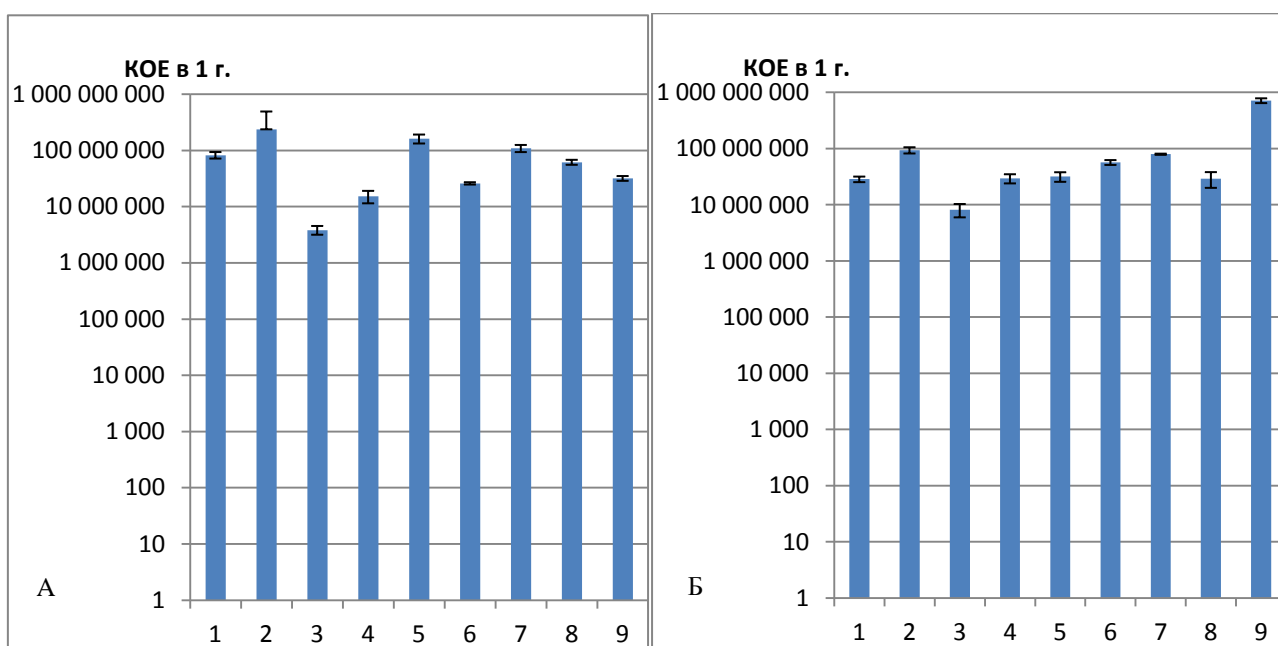


Рисунок 11 – ОПЗФ хлорофилла листьев *Onobrychis arenaria*

Микробиологический анализ образцов почвы показал, что внесение нефти в 2 раза стимулировало развитие аммонифицирующих бактерий, тогда как численность прототрофных бактерий уменьшилась в 25 раз, а азотфиксаторов – достоверно не изменилась (рисунок 12).

Дополнительное внесение в почву нефтеокисляющих бактерий в большинстве случаев приводило к изменению общей численности микроорганизмов в ризосфере по сравнению с контрольными вариантами, как в сторону увеличения, так и снижения. Это воздействие отличалось для разных видов бактерий. Так, достоверное снижение численности всех исследованных групп бактерий было обнаружено при внесении штамма *Arthrobacter pascens*,

который подавлял рост аборигенной микрофлоры в 3 - 16 раз по сравнению с микроорганизмами на нефтезагрязненной почве. Возможно, этот штамм является антагонистом для данного сообщества бактерий. Штамм *Arthrobacterpolychromogenes* также подавлял рост аммонифицирующих бактерий. При внесении *Acinetobactercalcoaceticus* количество всех групп бактерий, а также мицелиальных грибов увеличивалось в 1 – 5 раз. Увеличение численности аммонификаторов наблюдали при внесении *Rhodococcusfascians*, *Rhizobiumradiobacteri* смеси всех штаммов. При внесении штамма *Rhodococcuserythropolis* численность аммонифицирующих бактерий и микромицетов снизилась в 2 раза, тогда как численность прототрофов и азотфиксаторов увеличивалась в 2 раза.



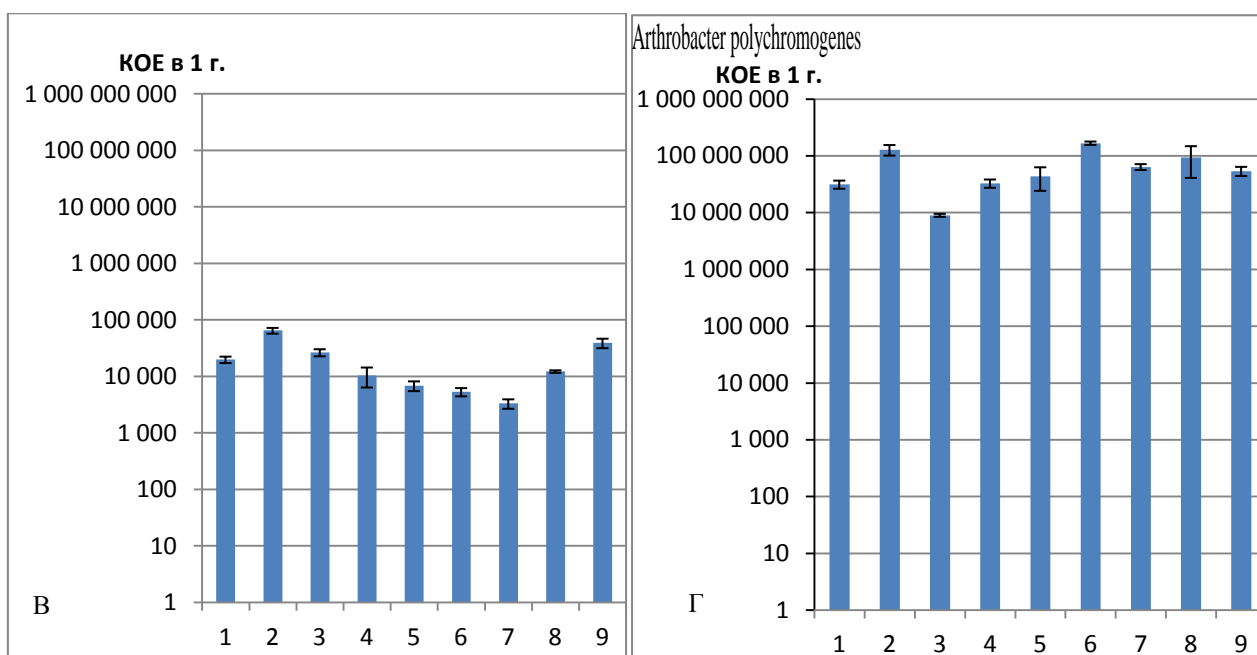


Рисунок 12 – Количество микроорганизмов в ризосфере растений при обработке почвы суспензиями нефтеокисляющих бактерий;

А – аммонифицирующие бактерии; Б – прототрофные бактерии; В – микромицеты; Г – азотфиксирующие бактерии. Образцы: 1 –

Rhodococcus fascians; 2 – *Acinetobacter calcoaceticus*; 3 – *Arthrobacter pascens*; 4 – *Arthrobacter polychromogenes*; 5 – *Rhizobium radiobacter*; 6 – *Rhodococcus erythropolis*; 7 – суспензия всех вышеперечисленных штаммов; 8 – контроль с нефтью; 9 – контроль без нефти.

Наиболее чувствительными к загрязнению нефтью, и к внесению бактериальных суспензий оказались микромицеты. Так, в контрольном варианте выявлено снижение их численности в 3 раза под действием нефти. Однако особенно резко снизилось количество микромицетов при добавлении суспензии всех штаммов бактерий – в 4 раза по сравнению с контролем.

Таким образом было показано, что наряду с действием нефтепродуктов существенное влияние на ризосферную микрофлору оказывает дополнительное внесение суспензии штаммов нефтеокисляющих бактерий, что, вероятно, активизирует конкурентные взаимоотношения в микробиоценозе и может подавить рост аборигенной микрофлоры. Среди исследуемых штаммов представители *Acinetobacter calcoaceticus*, *Rhodococcus fascians*, *Rhodococcus*

erythropolis могут быть использованы для утилизации нефтяных загрязнений совместно с эспарцетом в качестве фиторемедианта.

В большинстве случаев нефть и нефтепродукты, попадая в почву, стимулируют развитие ризосферной микрофлоры растений, направленную на постепенную деградацию данных загрязнителей.

Углеродородокисляющие микроорганизмы оказывают большое влияние на нефтезагрязненные почвы. Они снижают её фитотоксичность, тем самым повышают выживаемость растений. Поэтому для эффективной биоремедиации нефтезагрязненных почв рекомендовано комплексное применение углеродородокисляющих микроорганизмов и эспарцета песчаного устойчивых к углеводородам нефти растений-фиторемедиантов.

ВЫВОДЫ

По результатам проделанной работы можно сделать следующие выводы:

1 На основе анализа изменения морфологических параметров исследуемых растений при загрязнении почвы нефтью и нефтепродуктами выявлены виды, наиболее перспективные для биоремедиации.

2 Оценка параметров замедленной флуоресценции хлорофилла листьев *Onobrychis arenaria* в условиях углеводородного загрязнения почвы показала его более высокую устойчивость в присутствии различных видов бактерий-нефтедеструкторов и сорбента «Униполимер-Био».

3 Полученные чистые культуры микроорганизмов *Acinetobacter calcoaceticus*, *Rhodococcus fascians*, *Rhodococcus erythropolis* повышают устойчивость *Onobrychis arenaria* в качестве фиторемедианта и могут совместно с ним быть использованы для утилизации загрязнения нефтью и нефтепродуктами.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Андресон, Р.К. Экологические последствия загрязнения нефтью / Андресон, Р.К., Мукатанов А.Х., Бойко Т.Ф // Экология. 1980. №6. С. 21-25.
- 2 Аммосова, Я.М. Нефтезагрязненные почвы / Я.М. Аммосова, С.Я.Трофимов, Н.И. Суханова // Агрохим. вестн. — 1999. — № 5 — С. 37-38.
- 3 Бреус, И.П. Миграция углеводородов в увлажненном до состояния полевой влагоемкости выщелоченном черноземе / И.П. Бреус, Ю.А. Игнатьев, Е.В. Ефстифеева, С.А. Неклюдов, В.А. Бреус // Докл.Рос.акад. с.-х. наук. -2002. № 4.- С. 34-37.
- 4 Васильев, С.И. Охрана окружающей среды и рациональное недропользование при разработке, эксплуатации нефтяных месторождений, транспортировке нефти и нефтепродуктов./ Васильев С.И. Мелкозеров В.М. // Германия: Lambert Academic Publishing. - 2011. – 286 – 143 с.
- 5 Гайнутдинов, М.З. Рекультивация нефтезагрязненных земель лесостепной зоны Татарии / М.З. Гайнутдинов, С.М. Самосова, Т.И. Артемьева // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. Москва.: Наука.- 1988. - 177-197 с.
- 6 Гибадуллин, И.Г. Влияние нефтяного загрязнения на плодородие почв/ Гибадуллин И.Г., Ахметов А.З. // Тез.докл. X научн.-произв. конф. почвоведов, агрохимиков, земледелов Южного Урала и Поволжья. Уфа, 1982.- 242-243 с.
- 7 Гилязов, М.Ю. Агроэкологическая характеристика нарушенных принефтедобычи черноземов и приемы их рекультивации в условиях Закамья Татарстана // Саратов. Гос. Аграр. Ун-т им. Н.И. Вавилова. — Саратов, 1999. - 43 с.
- 8 Глазовская, М.А. Способность среды к самоочищению / М.А. Глазовская // Природа. 1979. - №5. - 71-79 с.
- 9 Голиков, С.Н. Общие механизмы токсикологического действия / С.Н. Голиков И.В. Саноцкий, Л.А. Тиунов. Л.// Медицина, 1986. - 280 с.

- 10 Григорьев Ю.С. Методика определения токсичности проб поверхностных пресных, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных вытяжек из почвы, осадков сточных вод и отходов по изменению оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer) // ПНД Ф Т 14,1:2:4,10-04 16,1:2,3:3,7-04. – М., 2004 (издание 2007 г.). – 37 с.
- 11 Гриценко, А.И. Экология. Нефть и газ / А.И. Гриценко, Г.С. Акопов, В.М. Максимов. - М.: Наука, 1997.-598 с.
- 12 Громовых, Т. И. Методы выделения, изучения и культивирования микроорганизмов/ Громовых, Т. И., Тюльпанова В.А., Гукасян В.М., Прудникова С.В.// 2006. -32-33 с.
- 13 Гузев, В.С. Роль почвенной микробиоты в рекультивации нефтезагрязненных почв. / Гузев В.С., Левин С.В., Селецкий Г.И // Микроорганизмы и охрана почв. Москва: изд-во МГУ, 1989. - 121-150 с.
- 14 Гусев, М.В. Микробиологическое разрушение нефтяного загрязнения / М.В. Гусев, Т.В. Коронелли// Изв. АН СССР. Сер.биол. 1981. - №6. - 835-844 с.
- 15 Давыдова, С.Л. Нефть и нефтепродукты в окружающей среде/ Давыдова С.Л., Тагасов В. И.// Учеб.пособие. - Москва: Изд-во РУДН, 2004. - 163 с.
- 16 Демидиенко, А.Я. Изучение питательного режима почв, загрязненных нефтью / Демидиенко А.Я., Демурджан В.М., Шеянова А.Д. // Агрохимия. 1983. No 9. - 100-103 с.
- 17 Захаров, С.А. Почвы Предкавказья / С.А. Захаров // в кн.: Почвы СССР. Москва.: Изд-во АН СССР.- 1939. - Т.3.
- 18 Исмаилов, Н.М. Способ рекультивации нефтезагрязненных почв / Н.М. Исмаилов: авт. свид. 1158258, СССР // Б. И. 1985. - №20. -МКИ В 09 В 3/00; С 12 R1/72.
- 19 Киреева, Н.А. Влияние нефтяного загрязнения на целлюлозную активность почв / Н.А. Киреева, В.В.Водопьянов, А.М. Мифтахова // Почвоведение. 2000. - №6. - С. 748-753.

- 20 Киреева, Н.А. Детоксикация нефтезагрязненных почв под посевами люцерны (*Medicago sativa* L.) / Н.А. Киреева, Е.М. Тарасенко, М.Д. Бакаева // *Агрохимия*. - 2004. - № 10. - 68-72 с.
- 21 Калюжин, В.А. Сравнительное влияние нефти и нефтепродуктов на всхожесть сельскохозяйственных культур / В.А. Калюжин, С.В. Рублева // *Контроль и реабилитация окруж. среды: материалы Междунар. симп. Томск.* - 1998. - 167 с.
- 22 Коваль, К.С. Методы ликвидации нефтяных загрязнений / Коваль К.С., Лапушова Л.А. // *Образование и наука: современное состояние и перспективы развития: сб. науч. тр. по материалам Междунар. науч-практ. конф.* / ООО «Консалтинговая компания Юком». - Тамбов, 2014. - С. 164.
- Косенко, И.С. Растительные зоны Западного Предкавказья и Северного Кавказа / И.С. Косенко // *тр. / Краснодар, Ин-т пищевой пром-ти*. 1947. - Вып.
- 23 Костерин, А.В. Эффект влажности и верхнего техногенно незагрязненного слоя почвы в биodeградации тридекана / А.В. Костерин, О.А. Софинская // *Вестн. Самар. гос. ун-та*. — 2004.- 158175 с.
- 24 Кузнецов, А. Е., Градова Н. Б. Научные основы экобиотехнологии. / Кузнецов А. Е., Градова Н. Б. // *Москва.: Мир*, 2006. - 504 с.
- 25 Лебедева, И.И. Структура почвенного покрова и антропогенез / И.И. Лебедева, В.Д. Тонгоногов // *Почвоведение*. 1994. - №2. - 38-42 с.
- 26 Лобачева, А.А. Техногенная трансформация почвенно-растительного покрова в зоне влияния нефтеперерабатывающего предприятия. Автореф. дисс.канд. биол. н. Самара: СамГУ. 2007.- 20 с.
- 27 Максименко, О.Е. Динамика восстановления растительности антропогенно нарушенного сфагнового болота на территории нефтепромысла в Среднем Приобье / Максименко О.Е., Червяков Н. А., Каркишко Т.И. и др // *Экология*. 1997. No 4.- 243-247 с.
- 28 Мирчинк, Т.Г. Почвенная микология. Москва.: Изд.-во МГУ:.- 1988. -220 с.

- 29 Назаров, А.В. Изучение причин фитотоксичности нефтезагрязненных почв / Назаров А.В., Иларионов С.А. //Альтернативная энергетика и экология. – 2005. – №. 1. – 60-65 с.
- 30 Назаров, А. В. Влияние нефтяного загрязнения почвы на растения //Вестник пермского университета. Серия: Биология. – 2007. – №. 5 с.
- 31 Нельсон-Смит, А. Нефть и экология моря. Москва.: Прогресс, 1977.- 301с.
- 32 Новоселова, Е.И. Роль ферментативной активности почв в осуществлении ею трофической функции в условиях нефтяного загрязнения / Новоселова Е.И., Киреева Н.А., Гарипова М.И. //Вестник Башкирского университета. – 2014. – Т. 19. – №. 2. – 474 с.
- 33 Пащенко, В.Н. Комплексная устойчивость растений к химическому загрязнению окружающей среды / В.Н. Пащенко // Экология. 1984. — №1. - 52-63 с.
- 34 Рязанова, О.С. Новые технологии при рекультивации техногенных территорий / О.С. Рязанова // Междунар. с.-х. ж. 1997. -№2. - 59-60 с.
- 35 Сакодынский, К.И. Полимерные сорбенты для молекулярной хроматографии./ Сакодынский К.И., Панина Н.И.//Москва.: Наука, 1977. – 176 – 144 с.
- 36 Смирнова, Е. В. Транспорт и распределение жидких углеводородов в выщелоченном черноземе :дис. – Казань :Казан.гос. ун-т, 2003.
- 37 Хабибуллин, Р.А. Состояние исследований по оценке и ликвидации последствий загрязнения почвы нефтью по фитотоксичности / Хабибуллин, Р.А., Коваленко М.В. //рекультивация земель в СССР: Тез.докл. Всес. конф. Москва.: 1982. Т.2.- 149152 с.
- 38 Хазиев, Ф.Х. Влияние нефтепродуктов на биологическую активность почв/ Хазиев Ф.Х., Тишкина Е.И., Киреева Н.А. // Биологические науки. 1988. №10.- 93-99 с.

- 39 Хазиев, Ф.Х. Изменение биохимических процессов в почве при нефтяном загрязнении и активация разложения нефти/ Хазиев Ф.Х., Фатхиев Ф.Ф. // Агрохимия. 1981. Т.1. №10.- 102-111 с.
- 40 Халимбекова, А.М. Воздействие загрязнения нефтью и нефтепродуктами на почвенно-растительный покров Приморской низменности Дагестана на примере месторождения «Изербаш». Автореф. дисс.канд. биол. н. Махачкала: ДагГУ. 2006. 26с.
- 41 Шилова, И.И. Биологическая рекультивация земель в условиях таежной зоны// Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. М.: Наука, 1988.- 159-168 с.
- 42 Шуйцев, Ю.К. Восстановительная способность растительности как основа прогнозного районирования (на примере нефтедобычи)// Ландшафтно-геохимическое районирование и охрана среды. Москва.: Мысль, 1983.- 145-153 с.
- 43 Биоиндикация загрязнений наземных экосистем: учеб. пособие / Э. Вайнерт [и др.]; под общ. ред. Р. Шуберта. – Москва: Мир, 1988. – 350 с.
- 44 Восстановление нефтезагрязнённых почвенных экосистем / Под ред. М.А. Глазковской.- Москва. Наука, 1988.- 264 с.
- 45 ДТ ГОСТ Р 52368-2005 (ЕН 590:2009). Топливо дизельное ЕВРО. Технические условия. [27.09.13]
- 46 ГОСТ Р 51105-97. Топлива для двигателей внутреннего сгорания. Неэтилированный бензин [27.09.13]
- 47 Советский энциклопедический словарь / Под ред. А.М. Прохоров.- М.: «Советская Энциклопедия», 1981.-1600 с.
- 48 Теоретические и практические вопросы предупреждения, ликвидации и рекультивации последствий нефтяного загрязнения: сб. ст. – Красноярск: Изд-во Сиб. федер. ун-та, 2015. – 250 с.
- 49 Результаты флуоресцентного метода определения токсичности вод, очищенных полимерным сорбентом «Униполимер-М» от нефтяных

загрязнений / Л.А. Лапушова [и др.] // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – 2015. – № 4. – С. 22–26.

50 Олейник, В.В. Метод получения сорбента и устройства для его осуществления / В.В. Олейник, В.М. Мелкозеров И.Д. На- горный.

51 Эффективное применение термоактивного сорбента «Уни- полимер-хамелеон»: экономические и социальные аспекты / Л.В. Задорожная, М.В. Сентюрова, Н.А. Демьянова, Л.А. Лапушова // Молодеж и наука: сб. тез. и докл. X Юбил. Всерос. науч.-техн. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых с международным участием, посвященной 80-летию образования Красноярского края. – Красноярск: Изд-во Сиб. федер. ун-та, 2014.

52 Некоторые особенности исследований эксплуатационных ха- рактеристик полимерных сорбентов, используемых в природоохран- ных технологиях / В.М. Мелкозеров [и др.] // Защита окружающей сре- ды в нефтегазовом комплексе. – 2013. – № 11. – С. 24–28.

53 Рекультивация почв сельскохозяйственного назначения с при- менением сорбента «Униполимер-М» / А.Г. Левченко, М.И. Витков- ский, А.С. Федотова, В.А. Куркин // Защита окружающей среды в неф- тегазовом комплексе. – 2013. – № 10. – С. 42–46.

54 Бурдин, К.С. Основы биологического мониторинга// учеб. по- собие. Бурдин К.С. Техническое описание сорбента. Коммерческое предложение. Патент Сибирский федеральный университет Институт нефти и газа Научно-производственное объединение «Сибэкособ» – М.: Изд-во МГУ, 1985. – 158 с.

55 A dynamic reaction cell for ICP-MS. Part 2: Reduction of interferences produced within the cell S. Tanner, V. Baranov J. Am. Soc. MassSpectrom.2002. 1083—1094 P.

56 Gudín, C. Syrratt, W. Biological aspects of land rehabilitation following hydrocarbon contamination// Environ. Pollut. 1975. V.8. №2. 107-112 P.

57 Lednicka, D. // Arch. Environ. Contam. and Toxicol. —2003. Vol. 44. — № 3.- 336-342 P.

- 58 Slaski, J.J. Identification of plant species suitable for phytoremediation of hydrocarbon/metal contaminated soils / J.J. Slaski, L.G. Stehmeier, F. Van Delft, M. Francis // Can. J. Plant Sci. 2006. - Vol. 86. - № 1. – 185-186 P.
- 59 Schwendinger, R.B. Reclamation of soil contaminated with oil// J.Inst. Petrol. 1968. V.54. №35. 183-197 P.
- 60 TungittiplakornWarapong Engineered polymeric nanoparticles for soil remediation / WarapongTungittiplakorn, Claude Cohen Leonard W. Lion, „Ju-Young Kim // Environ. Sci. and Technol. 2004. - T. 38. - № 5. - 1605-1610 P.
- 61 Sun
- 62 Tieheng, P. Phytoremediation for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and mineral oil contaminated soils / Tieheng Sun, Yufang Song, Huaxia Xu, Hairong Zhang, Guifen Yang // Yingyongshengtaixuebao. -1999. V. 10. - № 2. - 225-229 P.
- 63 Sawatsky, N. Land disposal of bioremediated hydrocarbon contaminated soils: Physical properties / N. Sawatsky, X. Li, R.L. Johnson // Can. J. Soil Sci. — 2011. — №3.- 434 P.
- 64 McGill W.W. Soil restoration following oil spills – a review // J. Canad. Petrol. Technol, 1977.-V.16, №2. –60-67 P..
- 65 Thomas R. Reaction cells and collision cells for ICP-MS: a tutorial review S. Tanner, V. Baranov, D. Bandura SpectrochimicaActa B 57, 2012, 1361—1452
- 66 Siddiqui S. Phytotoxicity and degradation of diesel hydrocarbons in the soil// Contaminated Soils, Sediments and Water. Abstr. 17-th International Confer. Amherst. USA, 2013
- 67 Crummer H.Y. Investigations on Sandy Soil Flooded by Gurgle Oil in Emsland// Zandm. Forsch., 1965. 17. 229-243 P..
- 68 Schwendinger R.B. Reclamation of soil contaminated with oil// J.Inst. Petrol. 2009. V.54. №35. 183-197 P..

69 Toren, A., Navon-Venezia S., Ron E. Z., Rosenberg E. (2001).
Emulsifying activities of purified Alasan proteins from *Acinetobacter radioresistens*
KA53. *Appl. Environ. Microbiol.* 67 (3), 1102-1106.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

2003 № 794 «О единой государственной системе предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций» (Собрание законодательства Российской Федерации, 2004, № 2, ст.121) с изменениями, внесенными Постановлением Правительства РФ от 27.05.2005 № 335, от 03.10.2006 № 600, от 07.11.2008 № 821, от 10.03.2009 № 219, от 16.07.2009 № 577, организации обязаны иметь запасы материалов для ликвидации чрезвычайных ситуаций.

Для ликвидации аварийной ситуации, связанной с разливом нефтепродуктов, нефти и сильнодействующих ядовитых жидкостей С.Д.Я.Ж., профилактической очистки территории организации независимо от форм собственности промышленные предприятия, АЗС и др. должны иметь постоянный расчетный запас нефтесорбирующих материалов для сбора и очистки объемов нефти и нефтепродуктов и С.Д.Я.Ж.:

1. стационарные хранилища нефти, нефтепродуктов и С.Д.Я.Ж., имеющие обваловки, выполненные в соответствии со СНИП (Строительные нормы и правила «Склады нефти и нефтепродуктов. Противопожарные нормы») (утвержден Постановлением Государственного комитета Российской Федерации по строительству и жилищно-коммунальному комплексу) – процент от объема максимального резервуара в нефтехранилище;

2. резервуарные парки нефтебаз и нефтеналивных станций речных и железнодорожных терминалов (расходные склады горюче-смазочных материалов), предприятия и стационарные хранилища горюче-смазочных материалов, не имеющие обваловки по СНИП, в соответствии с ВППБ 01-01-94 «Правила пожарной безопасности при эксплуатации предприятий нефтепродуктообеспечения» (утверждены Приказом Министерства топлива и энергетики Российской Федерации от 13.06.95 № 130);

3. автозаправочные станции – в соответствии с ВППБ 01-01-94 «Правила пожарной безопасности при эксплуатации предприятий нефтепродуктообеспечения» (утверждены Приказом Министерства топлива и энергетики Российской Федерации от 13.06.95 № 130);

4. территории, на которых отмечено интенсивное движение (присутствие) автотранспорта (автогаражи, автостоянки, автозаправочные станции с заглубленными резервуарами, территории портов, территории, прилегающие к организациям, для стоянки служебного автотранспорта, территории, прилегающие к торговым центрам и другие территории, на которых могут быть разливы нефтепродуктов) в соответствии со справочным пособием к СНИП «Проектирование сооружений для очистки сточных вод» - 240 литров на 1 гектар территории в год;

5. авторемонтные станции, станции разборки автомобилей, станции замены масел – 500 литров на 1 гектар территории в год, включая подъездные стояночные площадки.

Корпорация СФУ и НПО «Сибэксорб» г. Красноярска являются эксклюзивными изготовителями и поставщиками линейки различных

полимерных сорбентов серии «Униполимер – М», «Униполисорб», «Униполимер – БИО», «Меном», Мультисорбент и т.д., изготовленных по ТУ 2223-001-02067907-1996, ТУ 2223-004-00139152-2001, ТУ 2250-001-5878464-2003, ТУ 2254-001-02067876-2009.

Полимерные сорбенты предназначены для быстрой локализации, сбора и очистки загрязненной среды (грунтов и воды, включая оборотную, технологическую и ливневую) от нефти, нефтепродуктов, неполярных жидкостей, растворителей, ионов тяжелых металлов при проведении плановых, профилактических и очистных мероприятий, в случае возникновения аварийных, чрезвычайных техногенных ситуаций, сопровождающихся пожарами.

Полимерные сорбенты представляют собой наноконструкции в виде порошка, волокон, крошки, гранул и цельных конструктивных элементов: бон, матов, ковриков, фильтров и т.д., изготавливаются из экологически чистых органических материалов, не токсичны и не опасны для окружающей среды, неабразивные и их можно использовать в контакте с металлическими, пластмассовыми и резиновыми частями механизмов, нет необходимости применения дорогостоящих средств защиты для обслуживающего персонала, ускоряют рекультивацию нефтезагрязненных почв, могут применяться отдельно и в комплексе с различными биопрепаратами, имея при этом высокую сорбционную емкость 47-83 Гн/Гс;

При соблюдении герметичности упаковки и условий хранения сохраняют свойства неограниченный срок.

Количество нефтесорбента рассчитывают (делением объемов нефти и/или нефтепродуктов на поглощающую способность нефтесорбента) по формуле:

$$G_{н.с.} = V_n / Q,$$

где:

$G_{н.с.}$ – вес непреходящего запаса нефтесорбента, килограммов;

V_n – нормативный разлив нефти и/или нефтепродуктов, литров;

Q – поглощающая способность нефтесорбента, литров/килограмм нефтесорбента.

Предлагаем линейку полимерных сорбентов серии «Униполимер» для сбора масла (нефти, нефтепродуктов, бензина, дизельного топлива, мазута) и др. неполярных жидкостей, включая С.Д.Я.Ж.

Данные сорбенты можно использовать для сбора проливов, грунта, других поверхностей, сорбенты прекрасно работают при очистке поверхностей воды в загрязненных водоемах. Процесс сорбции (поглощения) жидкостей сорбентом со свободной поверхности характеризуется достаточно большой скоростью протекания. Это позволяет быстро собирать значительные объемы проливов нефтепродуктов и С.Д.Я.Ж.

При поглощении полимерными сорбентами горючих жидкостей снижается их пожароопасность, таким образом, сорбенты могут применяться при локализации и ликвидации пожаров.

Полимерный сорбент серии «УНИПОЛИМЕР-БИО» является биоразлагаемым и не требует сбора с поверхности. Данный продукт сочетает в себе достоинства сорбционных и биологических методов очистки.

Перечисленные сорбенты экологически безопасны, ТУ согласованы с РОССИЙСКИМ РЕЧНЫМ РЕГИСТРОМ и разрешены к применению в неограниченных количествах.

Таблица А.1. - Характеристики комбинированных, многофункциональных сорбентов

Характеристики	«Униполимер-М»	«Униполимер-БИО»	«Меном»	«Униполисорб»
Плотность, кг/м ³	8-35	6-20	4-25	10-45
Влажность, %	6-18	10-12	8-14	9-16
Плавуемость, %	100	100	100	100
РН водной вытяжки	5,5-6,5	4,5-5,5	5,8	6,5
Сорбирующая способность, Г _{нефти} /Г _{сorb.}	43-67	30-60	41-73	дифференцированная
Скорость сорбции, мм _{нефти} /с	0,8-1,5	0,4-1,0	0,6-2,9	1,3-3,7
Возврат собранной нефти, %	95-97	94-98 (биоразложение)	биоремедиация	90-95
Рабочая температура, °С	-25...+460	-10...+70	- 15...+120	0-70
Десорбция, %	0	0	0	0
Степень очистки, %	98-99,5	98-99,5	98-99,5	96-98
Активность кислотности среды, РН	4,5-8,5	4,5-8,5	4,5-8,5	5,0-7,3
Степень горючести, Г	1	1	1	2
Насыпная плотность, г/см ³	0,1-0,7	0,1-0,4	0,1-0,5	0,3-0,9
Массовая доля фракции с размером частиц	70-90	60-80	50-75	80-90

0,5-3,0 мм, % не более				
------------------------	--	--	--	--

Таблица А.2. - Сорбционные характеристики полимерного сорбента «Униполимер-М»

№ п/п	Вещество	Плотность в-ва г/см ³	Равновесная сорбционная емкость, г/г	Величина сорбции, % от равновесной емкости за время	
				15 с	2 мин
1	Бензин (ГОСТ 2084-77)	0,68...0,72	46,5	36,8	90,5
2	Керосин (ГОСТ10227-86)	0,71...0,82	60,8	16,5	52,3
3	Дизтопливо (ГОСТ 305-82)	0,835	60-80	17,7	48,2
4	Нефть (ГОСТ Р 51858-2002)	0,85	43-67	15,4	43,5
5	Моторное масло (ГОСТ 17479.1-85)	0,905	60-90	13,6	35,7
6	Мазут (ГОСТ10585-99)	0,96	15-20	11,8	32,4

Многофункциональные полимерные сорбенты: «Униполимер-М», «Меном», «Униполимер-БИО» с дифференцированной нефтеемкостью запатентованы в РФ и за рубежом (США, Англия, Канада, Германия, Норвегия).

Сорбенты и технологии запатентованы, отмечены 9 золотыми медалями на международных выставках 2001-2009 гг., а также 8 дипломами различных номинаций. Патентообладатель Мелкозеров В.М.

Сорбенты серии «Униполимер-М» лицензированы, имеют Паспорт безопасности материала Госстандарта РФ РПБ № 58171918.22.09074 от 15.02.2002, сертификат пожарной безопасности № ССПБ.RU OP025.H00145.ФГУ.ВНИИПО МЧС РФ соответствуют аттестату аккредитации выпускаемой продукции согласно требованиям международного стандарта ISO.

Сорбент «Униполимер-М» по своим технико-экономическим показателям превосходит другие сорбенты. Сорбированная нефть и нефтепродукты не вымываются из сорбента даже при длительном пребывании их на водной поверхности.

Сорбент «Униполимер-М» и его модифицирующие изделия обладают уникальными сорбционными свойствами к широкому спектру различных нефтепродуктов с возможностью мгновенно создавать негорючее защитное

покрытие на поверхности легковоспламеняющихся жидкостей. Высоко эффективны, экономичны и экологически безопасны при проведении природоохранных работ.

В основе концепции организации производства природоохранных работ в рамках экологической политики определены ключевые элементы и критерии следующих приоритетных направлений:

- улучшение природоохранной деятельности в области охраны окружающей среды и экологической безопасности на опасных предприятиях (ОП) с созданием экологического сервиса в регионе;
- снижение негативного, антропогенного воздействия на окружающую среду за счет организации и расширения ассортимента производства природоохранных работ и профилактических мероприятий;
- внедрение био-конвейеров марки БК-М для очистки гидросферы с разработкой инструкций и рекомендаций;
- повышение экологической безопасности природоохранных санитарно-гигиенических условий труда и противопожарных мероприятий по очистке нефтезагрязненных земель и гидросферы с нормируемым табелем оснащенности сорбирующих материалов и технических средств;
- проведение оценки антропогенного воздействия на естественные экосистемы в результате разливов нефтепродуктов;
- создание специальных высокоэффективных гидрофобных адсорбентов, полимикробных сорбентов, формовочных композиционно-сорбирующих изделий: матов, бон, фильтропластов, бумерных рукавов-ковриков, также технических средств, устройств эко – комплектов наборов аварийного реагирования, включая модульные, Н.А.Р., М.Н.А.Р.;
- проведение НИОКР в области охраны окружающей среды с оказанием консультационных услуг по внедрению и адаптированию технологий возрождения природы;
- внедрение технологий возрождения природы с разработкой регламентов работ по индустриальной очистке, консервацией нефтезагрязненных объектов и рекультивацией (т.е. биовосстановлением) нарушенных земель на основе РД 39-00147105-006-97;
- координация деятельности предохранных работ по Сибирскому Федеральному округу в решении производственных и научно-технических задач в области экологической безопасности;
- руководство, взаимодействие систем предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций на ОП с проведением и прогнозированием экологического мониторинга согласно ГОСТ Р 22.8.01-96;
- разработка проектов рекультивации нефтезагрязнённых территорий и водных акваторий;
- исследование и проведение аналитического обзора научных разработок;
- создание Сибирского регионального научно-производственного экологического объединения в городе Красноярске на базе ООО

«Зеленый город» с определением юридического статуса и формы собственности;

- разработка региональной целевой программы Сибири и Дальнего Востока по созданию аварийных запасов природоохранных средств, материалов и оборудования, согласно образцам эталона менеджмента качества по ГОСТ Р ИСО 9001-2001, в соответствии требований международного стандарта системы окружающей среды ИСО 14000.

Таблица А – 3 Двухфакторный дисперсионный анализ средней длины *Onobrychis arenaria* с различными штаммами микроорганизмов

	<i>Onobrychis arenaria</i> + нефть +микроорганизмы	<i>Onobrychis arenaria</i> + нефть
1. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Rhodococcus fascians</i> +нефть	3	10
2. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> +нефть	4	10
3. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Arthrobacter pascens</i> +нефть	4	10
4. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Arthrobacter polychromogenes</i> +нефть	10	10
5. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Rhizobium radiobacter</i> +нефть	5	10
6. <i>Rhodococcus erythropolis</i> + <i>Onobrychis arenaria</i> +нефть	9	10
7. <i>Onobrychis arenaria</i> +Все штаммы вместе+нефть	9	10
8. <i>Onobrychis arenaria</i> +нефть	10	
9. <i>Onobrychis arenaria</i> на чистой почве	12	

по столбцам (с микроорганизмами и без - различия достоверны)

	<i>Счет</i>	<i>Су</i> <i>мм</i>	<i>Сред</i> <i>нее</i>	<i>Диспе</i> <i>рсия</i>
ИТОГИ				
1. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Rhodococcus</i>	2	13	6.5	24.5

ОПЗ
Ф

s fascians+нефть

2. Onobrychis
arenaria+Acinetobacter

calcoeticus+нефть 2 14 7 18

3. Onobrychis
arenaria+Arthrobacter
rascens+нефть

2 14 7 18

4. Onobrychis
arenaria+Arthrobacter

polychromogenes+нефть

2 20 10 0

5. Onobrychis
arenaria+Rhizobium
radiobacter+нефть

2 15 7.5 12.5

6. Rhodococcus
erythropolis+Onobrychis
arenaria+нефть

2 19 9.5 0.5

7. Onobrychis
arenaria+Все
штаммы

вместе+нефть 2 19 9.5 0.5

Onobrychis arenaria+нефть

6.28 8.571

+микроорганизмы

7 44 5714 429

Onobrychis arenaria+нефть

7 70 10 0

Дисперсионный анализ

					<i>P-</i>	<i>F</i>
					<i>Знач</i>	<i>крити</i>
<i>Источник вариации</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>ение</i>	<i>ческое</i>
	25.7		4.28			4.2838
Строки	1429	6	5714	1	0.5	66
	48.2		48.2	11.26	0.01	5.9873
Столбцы	8571	1	8571	667	5294	78
	25.7		4.28			
Погрешность	1429	6	5714			
Итого	99.7	13				

Таблица А 4 - Двухфакторный дисперсионный анализ количества проростков *Onobrychis arenaria* с различными штаммами микроорганизмов

	<i>Onobrychis arenaria</i> + нефть +микроорганизмы	<i>Onobrychis arenaria</i> + нефть
1. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Rhodococcus fascians</i> +нефть	20	34
2. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> +нефть	17	34
3. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Arthrobacter pascens</i> +нефть	25	34
4. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Arthrobacter polychromogenes</i> +нефть	28	34
5. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Rhizobium radiobacter</i> +нефть	11	34
6. <i>Rhodococcus erythropolis</i> + <i>Onobrychis arenaria</i> +нефть	31	34
7. <i>Onobrychis arenaria</i> +Все штаммы вместе+нефть	19	34
8. <i>Onobrychis arenaria</i> +нефть	34	
9. <i>Onobrychis arenaria</i> на чистой почве	36	

	Сче	Су	Сред	Диспе
ИТОГИ	т	мм	нее	рсия

1. Onobrychis arenaria+Rhodococcus fascians+нефть	2	54	27	98
2. Onobrychis arenaria+Acinetobacter calcoeticus+нефть	2	51	25.5	144.5
3. Onobrychis arenaria+Arthrobacter pascens+нефть	2	59	29.5	40.5
4. Onobrychis arenaria+Arthrobacter polychromogenes+нефть	2	62	31	18
5. Onobrychis arenaria+Rhizobium radiobacter+нефть	2	45	22.5	264.5
6. Rhodococcus erythropolis+Onobrychis arenaria+нефть	2	65	32.5	4.5
7. Onobrychis arenaria+Все штаммы вместе+нефть	2	53	26.5	112.5
Onobrychis arenaria+ нефть			21.5	47.28
+микроорганизмы	7	151	7143	571
Onobrychis arenaria+ нефть	7	238	34	0

Дисперсионный анализ

Источник вариации	SS	df	MS	F	P- Знач ение	F критич еское
Строки	141. 8571	6	23.6 4286	1	0.5	4.2838 66
Столбцы	540. 6429	1	540. 6429	22.86 707	0.00 3057	5.9873 78
Погрешность	141. 8571	6	23.6 4286			

	824.	
Итого	3571	13

Таблица А 5 - Двухфакторный дисперсионный анализ ОПЗФ хлорофилла листьев *Onobrychis arenaria* с различными штаммами микроорганизмов

	микр+не фть	нефт ь			
1. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Rhodococcus fascians</i> +нефть	0.96	0.95			
2. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> +нефть	1.02	0.95			
3. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Arthrobacter pascens</i> +нефть	1.05	0.95			
4. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Arthrobacter polychromogenes</i> +нефть	1.07	0.95			
5. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Rhizobium radiobacter</i> +нефть	1.07	0.95			
6. <i>Rhodococcus erythropolis</i> + <i>Onobrychis arenaria</i> +нефть	0.99	0.95			
7. <i>Onobrychis arenaria</i> +Все штаммы вместе+нефть	1.07	0.95			
8. <i>Onobrychis arenaria</i> + нефть	0.95				
9. <i>Onobrychis arenaria</i> на чистой почве	0.9				
<i>ИТОГИ</i>			<i>Сче т</i>	<i>Сум ма</i>	<i>Сред нее</i>
1. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Rhodococcus fascians</i> +нефть	2	1.91	0.955	5E-05	
2. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> +нефть	2	1.97	0.985	0.00245	
3. <i>Onobrychis arenaria</i> + <i>Arthrobacter pascens</i> +нефть	2	2	1	0.005	

4. Onobrýchis arenária+Arthrobacter polychromogenes+нефть	2	2.02	1.01	0.007	2
5. Onobrýchis arenária+Rhizobium radiobacter+нефть	2	2.02	1.01	0.007	2
6. Rhodococcus erythropolis+Onobrýchis arenária+нефть	2	1.94	0.97	0.000	8
7. Onobrýchis arenária+Все штаммы вместе+нефть	2	2.02	1.01	0.007	2
микр+нефть	7	7.23	1.03	0.001	957
нефть	7	6.65	0.95	1.44E	-32

Дисперсионный анализ

Источник вариации	SS	df	MS	F	P- Значение	крит
Строки	0.005871	6	0.000979	1	0.5	
Столбцы	0.024029	1	0.024029	24.55474	0.002564	
Погрешность	0.005871	6	0.000979			
Итого	0.035771	13				

Паспорта используемой продукции

Рисунок 1А - Бензин неэтилированной марки АИ - 92-К5



Акционерное общество "Ачинский нефтеперерабатывающий завод Восточной нефтяной компании"
Юридический адрес и место производства:
662110, Российская Федерация, Красноярский край, Большеулуйский район, промзона НПЗ
e-mail: sekr@achnpz.ru, т/ф. 8(39159) 5-33-10

Сертификат системы менеджмента качества ISO 9001:2008 № 15.0530.026
Срок действия сертификата: по 20.05.2018

Центральная заводская лаборатория АО "АНПЗ ВНК"
662110, Российская Федерация, Красноярский край, Большеулуйский район, промзона НПЗ
Акционерное общество "Ачинский нефтеперерабатывающий завод Восточной нефтяной компании"
e-mail: sekr@achnpz.ru т/ф. 8(39159) 5-33-10
Аттестат аккредитации лаборатории № RA.RU.21AB49
Срок действия аттестата аккредитации: не ограничен.

ПАСПОРТ №67

Бензин неэтилированный марки АИ-92-К5
по ГОСТ 32513-2013

(Автомобильный бензин экологического класса К5 марки АИ-92-К5)

Декларация о соответствии ТС № RU Д-РУ.АЯ08.В.01394
Срок действия - по 25.02.2020

Обозначение документов, устанавливающих требования к топливу:
Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 013/2011 "О требованиях к
автомобильному и авиационному бензину, дизельному и судовому топливу, топливу для
реактивных двигателей и мазуту"
(Решение Комиссии Таможенного Союза от 18.10.2011г. № 826) (Приложение 2)
ГОСТ 32513-2013 "Топлива моторные. Бензин неэтилированный. Технические условия"
Код ОКПД2 19.20.21.125
Номер партии: 67
Дата изготовления: 26.04.2017
Размер партии (масса): 6951,370 т
Место отбора пробы (по ГОСТ 2517): Резервуар № 25
Дата отбора проб: 26.04.2017
Дата проведения испытаний: 27.04.2017
Паспорт выдан на основании: протокола испытаний от 27.04.2017 №799



№	Наименование показателя	Метод испытания	Норма по ТР ТС 013/2011	Норма по ГОСТ 32513-2013	Фактическое значение
1	Октановое число: - по исследовательскому методу - по моторному методу	ГОСТ 32339 ГОСТ 32340	не менее 80 не менее 76	не менее 92,0 не менее 83,0	92,0 84,8
2	Концентрация свинца, мг/дм ³	ГОСТ EN 237	отсутствие	отсутствие	отсутствие
3	Концентрация смол, промытых растворителем, мг на 100 см ³ бензина	ГОСТ 1567	-	не более 5	1
4	Индукционный период бензина, мин	ISO 7536	-	не менее 360	2304
5	Массовая доля серы, мг/кг	ГОСТ ISO 20846	не более 10	не более 10	менее 3,0
6	Объемная доля бензола, %	ГОСТ 32507 (метод Б)	не более 1	не более 1	0,8
7	Объемная доля углеводородов, % - олефиновых - ароматических	ГОСТ 32507 (метод Б)	не более 18 не более 35	не более 18,0 не более 35,0	0,1 33,6
8	Массовая доля кислорода, %	ГОСТ EN 13132	не более 2,7	не более 2,7	0,40
9	Объемная доля оксигенатов, %: - метанола - этанола - изопропилового спирта - третбутилового спирта - изобутилового спирта - эфиров, содержащих 5 или более атомов углерода в молекуле - других оксигенатов (с температурой конца кипения не выше 210°C)	ГОСТ EN 13132	отсутствие не более 5 не более 10 не более 7 не более 10 не более 15 не более 10	отсутствие не более 5,0 не более 10,0 не более 7,0 не более 10,0 не более 15,0 не более 10,0	отсутствие менее 0,17 менее 0,17 менее 0,17 менее 0,17 1,9 менее 0,17
10	Испытание на медной пластинке (3 ч при 50°C)	ГОСТ 6321	-	класс 1	класс 1
11	Внешний вид	ГОСТ 32513 п.8.2	-	чистый, прозрачный	чистый, прозрачный
12	Плотность при 15 °С, кг/м ³	ГОСТ Р 51069	-	725,0-780,0	740,5
13	Концентрация марганца, мг/дм ³	ГОСТ Р 51925	отсутствие	отсутствие	отсутствие
14	Концентрация железа, мг/дм ³	ГОСТ 32514	отсутствие	отсутствие	отсутствие
15	Объемная доля монометиланилина, %	ГОСТ 32515	отсутствие	отсутствие	отсутствие
16	Давление насыщенных паров, кПа	ГОСТ EN 13016-1 ГОСТ 32513 п.8.4	в летний период 35-80 в зимний период 35-100	в летний период 35-80 в зимний и межсезонный период 35-100	87,6
17	Фракционный состав: - объемная доля испарившегося бензина, % при температуре: 70°C (И70) для классов А,В;	ГОСТ 2177 (метод А)	-	15-48	

	для классов C, C1; D, D1; E, E1; F, F1 100°C (И100) 150°C (И150) конечная доля остатка в колбе, %		-	15-50 40-70 не менее 75 не выше 215,0 не более 2,0	29,0 52,0 88,0 182,0 1,0
18	Максимальный индекс паровой пробки (ИПП) для классов A,B,C,D,E,F; для классов C1,D1,E1,F1	ГОСТ 32513 п.8.3	-	-	1350 1079

Заключение:

Бензин неэтилированный марки АИ-92-К5 по ГОСТ 32513-2013 (Автомобильный бензин экологического класса К5 марки АИ-92-К5)

соответствует требованиям:

- Технического регламента Таможенного союза ТР ТС 013/2011 "О требованиях к автомобильному и авиационному бензину, дизельному и судовому топливу, топливу для реактивных двигателей и мазуту" (Решение Комиссии Таможенного Союза от 18.10.2011г. № 826) (Приложение 2)
- ГОСТ 32513-2013 "Топлива моторные. Бензин неэтилированный. Технические условия"
- класс испаряемости C1;D1;E;E1;F;F1

Сведения о наличии присадок в топливе:

- топливо не содержит присадок.

Дополнительная информация:

- топливо не содержит красителей и вещества - метки.
- топливо не содержит металлосодержащих присадок;
- маркировка, транспортирование и хранение по ГОСТ 1510;
- изготовитель АО "АНПЗ ВНК" гарантирует соответствие качества бензина неэтилированного марки АИ-92-К5 требованиям ГОСТ 32513-2013 при соблюдении условий транспортирования и хранения по ГОСТ 1510 в течение 1 года со дня изготовления.
- паспорт безопасности № 05747206.02.36597. Срок действия до 09.12.2019
- код вида подакцизного товара 665;



Начальник смены

Дата выдачи паспорта

27.04.2017

копия верна



Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт экологии и географии
Кафедра экологии и природопользования

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой



подпись

« 20 » 06 20 17 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Система «растение-микроорганизмы» в биоремедиации почв, загрязненных
нефтью и нефтепродуктами

05.04.06 Экология и природопользование

05.04.06.02 Общая экология

Руководитель



подпись, дата

Н.В. Пахаров

инициалы, фамилия

Выпускник



подпись, дата

А.С. Тека

инициалы, фамилия

Нормоконтролер



подпись, дата

Т.С. Шибачева

инициалы, фамилия

Рецензент



подпись, дата

О.В. Золотых

инициалы, фамилия

Красноярск 2017